



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Química e Ingeniería Química
Escuela Profesional de Química

**Síntesis, caracterización estructural y actividad
antimicrobial de nanopartículas de cobre recubiertas
con plata (Cu@Ag) obtenidas por electroless plating**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico

AUTOR

Fernando GRANDEZ ARIAS

ASESOR

Aldo Javier GUZMÁN DUXTAN

Lima, Perú

2016



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Grandez, F. (2016). *Síntesis, caracterización estructural y actividad antimicrobial de nanopartículas de cobre recubiertas con plata (Cu@Ag) obtenidas por electroless plating*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Química e Ingeniería Química, Escuela Profesional de Química]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

342

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE QUÍMICA E INGENIERÍA QUÍMICA

136

ESCUELA PROFESIONAL DE QUÍMICA

Central: 619 7000 anexos 4280 Telefax: 1209
Ciudad Universitaria - Calle Germán Amezaga 375 - Lima 1

"Año de la consolidación del Mar de Grau"

ACTA DE TITULACIÓN POR TESIS

Los suscritos miembros del Jurado, nombrados por la Dirección de la Escuela Académico Profesional de Química bajo la Presidencia del **Dr. JULIO CÉSAR SANTIAGO CONTRERAS** (Presidente), el **Dr. JESÚS AMÉRICO CJUNO HUANCA** (Miembro) y el **Quím. ALDO JAVIER GUZMÁN DUXTAN** (Asesor), habiendo presentado para tal efecto la TESIS, titulada **"SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIAL DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE RECUBIERTAS CON PLATA (Cu@Ag) OBTENIDAS POR ELECTROLESS PLATING"**, después de **SUSTENTADA Y APROBADA** la TESIS elaborada por el Bachiller en Química: **FERNANDO GRANDEZ ARIAS**, para optar el **TÍTULO PROFESIONAL de QUÍMICO**, acordaron calificarlo con la **NOTA** de:


Dieciocho

(LETRA)

18

(NÚMERO)

Ciudad Universitaria, 05 de setiembre del 2016.


Dr. JULIO CÉSAR SANTIAGO CONTRERAS
PRESIDENTE


Dr. JESÚS AMÉRICO CJUNO HUANCA
MIEMBRO


Quím. ALDO JAVIER GUZMÁN DUXTAN
ASESOR


Dr. JULIO CÉSAR SANTIAGO CONTRERAS
DIRECTOR (e) DE LA E.P. DE QUÍMICA



Mi agradecimiento a los miembros del jurado:

Presidente: Julio Santiago Contreras

Miembro: Jesús Américo Cjuno Huanca

Asesor: Aldo Javier Guzmán Duxtan

Fecha de sustentación: 05/09/2016

Dedico este trabajo a mis padres y a mi hermano, ya que con su constante esfuerzo y cariño me han enseñado de una manera simple lo que necesito para superar cualquier reto.

A cada una de las personas de las cuales aprendí mucho y
que con su ayuda hicieron posible la realización de este
proyecto.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE QUÍMICA E INGENIERÍA QUÍMICA

ESCUELA PROFESIONAL DE QUÍMICA

Central: 619 7000 anexos 1230 Telefax: 1209
Ciudad Universitaria – Calle Germán Amezaga 375 – Lima 1

“Año de la consolidación del Mar de Grau”

ACTA DE TITULACIÓN POR TESIS

Los suscritos miembros del Jurado, nombrados por la Dirección de la Escuela Académico Profesional de Química, bajo la Presidencia del **Dr. JULIO CÉSAR SANTIAGO CONTRERAS** (Presidente), el **Dr. JESÚS AMÉRICO CJUNO HUANCA** (Miembro) y el **Quím. ALDO JAVIER GUZMÁN DUXTAN** (Asesor), habiendo presentado para tal efecto la **TESIS**, titulada **“SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIAL DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE RECUBIERTAS CON PLATA (Cu@Ag) OBTENIDAS POR ELECTROLESS PLATING”**, después de **SUSTENTADA Y APROBADA** la **TESIS** elaborada por el Bachiller en Química: **FERNANDO GRANDEZ ARIAS**; para optar el **TÍTULO PROFESIONAL de QUÍMICO**, acordaron calificarlo con la **NOTA** de:

Dieciocho

(LETRA)

18

(NÚMERO)

Ciudad Universitaria, 05 de setiembre del 2016.

Dr. JULIO CÉSAR SANTIAGO CONTRERAS
PRESIDENTE

Dr. JESÚS AMÉRICO CJUNO HUANCA
MIEMBRO

Quím. ALDO JAVIER GUZMÁN DUXTAN
ASESOR

Dr. JULIO CÉSAR SANTIAGO CONTRERAS
DIRECTOR (e) DE LA E.P. DE QUÍMICA



LISTA DE SIMBOLOS Y ABREVIATURAS

Abreviatura	Nombre completo
AA	Ácido ascórbico
AC	Ácido cítrico
AFM	Microscopia de fuerza atómica
AgOAc	Acetato de plata
BSE	Electrones retrodispersados
CuOAc	Acetato de cobre
DLS	Dispersión dinámica de luz
DRX	Difracción de rayos X
EDS	Espectroscopia de energía dispersiva
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EDX	Espectroscopia de rayos X de energía dispersiva
EG	Etilenglicol
EPEE	Espectroscopia de pérdida de energía electrónica
ERSM	Espectroscopia Raman de superficie mejorada
FRX	Fluorescencia de rayos X
FRX-ED	Fluorescencia de rayos X de energía dispersiva
FRX-LOD	Fluorescencia de rayos X de longitud de onda dispersiva
IR, IRC, IRM, IRL	Infrarrojo; infrarrojo cercano, medio y lejano.
MEB	Microscopia electrónica de barrido
MET	Microscopia electrónica de transmisión
METAR	Microscopia electrónica de transmisión de alta resolución
MW	Microondas
NPs	Nanopartículas
NPs Ag	Nanopartículas de plata
NPs Cu	Nanopartículas de cobre
NPs Cu@Ag	Nanopartículas de cobre recubiertas con plata
PVP	Polivinilpirrolidona
RPS	Resonancia del plasmón superficial
SE	Electrones secundarios
SLS	Dispersión estática de luz
US	Ultrasonido
UV-vis	Ultravioleta-visible

INDICE GENERAL

I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	2
III. OBJETIVOS	5
IV. HIPÓTESIS.....	6
V. JUSTIFICACIÓN.....	7
VI. MARCO TEÓRICO	8
VI.1 Nanopartículas.....	8
VI.2 Métodos de Síntesis de Nanopartículas Metálicas	9
VI.2.1 Métodos Top Down	9
VI.2.2 Métodos Botton Up.....	9
VI.3 Técnicas de Caracterización Estructural	12
VI.3.1 Espectrofotometría UV-Vis	12
VI.3.2 Difracción de Rayos X (DRX)	15
VI.3.3 Fluorescencia de Rayos X (FRX)	17
VI.3.4 Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)	22
VI.3.5 Microscopia Electrónica de Transmisión (MET)	25
VI.3.6 Dispersión dinámica de luz (DLS)	27
VI.3.7 Espectroscopia infrarroja (IR)	31
VI.4 Nanopartículas de cobre.....	34
VI.4.1 Síntesis y caracterización.....	35
VI.5 Nanopartículas de plata.....	38
VI.5.1 Síntesis y caracterización.....	39
VI.7 Nanopartículas bimetálicas.....	42
VI.7.1 Nanopartículas core@shell	43
VI.7.1.1 Síntesis de nanopartículas metal@metal	43
VI.7.1.2 Recubrimiento no electrolítico	44
VI.7.1.3 Nanopartículas Cu@Ag.....	47
VII.- ANTECEDENTES.....	52
VII.1 Síntesis de Nanopartículas de cobre	52
VII.2 Síntesis de Nanopartículas de plata	53

VII.3 Síntesis de Nanopartículas Cu@Ag y aplicaciones	54
VII.3.1 Revistas científicas	54
VII.3.2 Vigilancia tecnológica (VT) de Patentes	57
VII.3.3 VT Tecnológica y empresarial	58
VIII. SECCION EXPERIMENTAL	59
VIII.1. Descripción del material y el equipo utilizado	59
VIII.1.1 Reactivos y cepas bacterianas	59
VIII.1.2 Equipos	59
VIII.1.2.1 Equipos de caracterización	59
VIII.1.2.2 Equipos de auxiliares	60
VIII.1.2.3 Equipos de vidrio	60
VIII.2 Metodología	61
VIII.3. Síntesis de NPs Cu@Ag	62
VIII.3.1 Síntesis de NPs Cu(0)	63
VIII.3.2. Síntesis de NPs Ag(0)	65
VIII.3.3. Síntesis de Cu@Ag	68
VIII.5 Actividad Bactericida de las Cu@Ag NPs	69
VIII.5.1 Prueba de difusión en disco	69
VIII.5.2 Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)	69
VIII.5.3 Determinación de la concentración mínima bactericida (CMB)	70
VIII.5.4 Determinación de la cinética de muerte	70
VIII.6 Caracterización estructural	70
IX. RESULTADOS	72
IX.1 Espectroscopia UV-vis de absorción	72
IX.1.1 Deconvolución de los espectros obtenidos	73
IX.2 Espectroscopia FT-IR	78
IX.3 Difracción de rayos x (DRX)	80
IX.4 Fluorescencia de rayos x (FRX)	82
IX.5 Microscopia electrónica de barrido (MEB)	83
IX.6 Microscopia electrónica de transmisión (MET)	85
IX.7 Dispersión dinámica de luz (DLS)	86

IX.8 Síntesis	87
IX.9 Actividad bactericida	88
X. DISCUSION DE RESULTADOS	91
X.1 Espectroscopia UV-vis de absorción	91
X.2 Espectroscopia FT-IR	93
X.3 Difracción de rayos x (DRX)	94
X.4 Fluorescencia de rayos x (FRX)	95
X.5 Microscopia electrónica de barrido (MEB)	95
X.6 Microscopia electrónica de transmisión (MET)	96
X.7 Dispersión dinámica de luz (DLS).....	96
X.8 Síntesis	97
X.9 Actividad bactericida	99
XI. CONCLUSIONES	101
XII. RECOMENDACIONES	102
XIII. BIBLIOGRAFIA	103
XIV. ANEXO	124
III.5 TECNICAS SCHLENK	124
III.5.1 Diseño básico de una línea Schlenk y el material de vidrio usado	125
III.5.1.1 La línea de gas inerte	126
III.5.1.2 La línea de vacío y la trampa fría	127
III.5.1.3 Cambio de gas a vacío	128
III.5.1.4 Conexión del material de vidrio a la línea Schlenk	129
III.5.1.5 Engrasado de las juntas, llaves y tapas.....	130
III.5.2 Técnicas Schlenk.....	130
III.5.3 Equipo Schlenk.....	131
XV. LISTA DE TABLAS	132
XVI. LISTA DE FIGURAS.....	132

I. RESUMEN

Se sintetizaron NPs Cu@Ag utilizando un procedimiento sintético de dos pasos, los cuales involucraron: La reducción de un carboxilato de cobre con ácido ascórbico y ácido cítrico, y el posterior recubrimiento de las NPs Cu obtenidas con plata, mediante el método electroless plating. La síntesis de NPs Cu se realizó mediante la reducción inicial del Cu^{2+} a Cu^{1+} con ácido ascórbico y la inmediata reducción de Cu^{1+} a Cu^0 con ácido cítrico. Como precursores metálicos se emplearon acetato de cobre (II) y de plata. Se evaluaron condiciones de síntesis tales como temperatura, tiempo de reacción, tiempos de goteo, y concentración de reactivos, encontrándose que las más influyentes son la concentración de los agentes reductores, y el tiempo de goteo del acetato de plata durante el recubrimiento. Las NPs sintetizadas fueron caracterizadas mediante espectroscopia UV-vis, DRX, MEB, MET, DLS, FT-IR y FRX, encontrándose que estas presentaron una forma predominantemente esférica y tamaños que variaron de 35,5 a 43,6 nm, estando tales valores relacionados de manera inversamente proporcional al tiempo de goteo durante el recubrimiento. Como etapa final del trabajo se evaluó la actividad bactericida de las NPs sintetizadas frente a cepas estándar de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), determinándose una alta capacidad antibacterial, incluso a bajas concentraciones. Se concluyó finalmente que el método propuesto permite obtener NPs Cu@Ag altamente estables, con una dispersión aceptable, y que estas poseen una elevada actividad bactericida.

II. INTRODUCCIÓN

En los últimos años el desarrollo de la nanotecnología a nivel mundial, ha experimentado un crecimiento exponencial debido a las potencialidades existentes en el uso de nanomateriales en diversos campos de la ciencia y la industria. Así, actualmente resulta algo normal que artículos de uso cotidiano basen parte su funcionamiento en el comportamiento único de distintos materiales a escala nanométrica, siendo los dispositivos electrónicos como las computadoras, las tablets, los celulares y los televisores inteligentes los más conocidos. Por otro lado, también es posible encontrar estos materiales en cosméticos, fármacos, alimentos e incluso en la propia ropa que usamos [1].

Desde un punto de vista más científico, el desarrollo de la nanotecnología ha permitido lograr cosas que hasta hace un tiempo parecían imposibles. Por ejemplo, en el campo de la medicina, se han desarrollado nanosensores que permiten detectar moléculas individuales indicadoras de enfermedades como el cáncer [2]. Entre otras aplicaciones están el transporte eficiente de fármacos, el desarrollo de nuevos materiales y el desarrollo de computadoras cuánticas.

En el caso específico de nanopartículas (NPs), actualmente su desarrollo se encuentra direccionado al desarrollo de dispositivos y tecnologías que aprovechen sus propiedades, algo que no ocurría hasta hace algunos años ya que en ese entonces aún había una necesidad primordial de explorar más métodos de síntesis y de perfeccionar otros tantos para hacer factible su producción a una escala aceptable y su utilización a nivel industrial. De esta manera, es posible encontrar NPs embebidas en productos que se utilizan en distintos ámbitos como la industria de cosméticos, dispositivos electrónicos para el hogar, fármacos, alimentos, pinturas, lubricantes, equipos especializados para laboratorios, etc. También son usadas para la funcionalización de materiales como cerámicos o polímeros [3].

En cuanto a nuestro país, la utilización de nanomateriales a escala industrial y más aún el desarrollo de una industria nanotecnológica, están aún en un nivel muy

básico o inexistente. La razón de esto es, entre otras cosas, la desinformación que el sector empresarial tiene con respecto a las potencialidades económicas del desarrollo de este tipo de industria en un país con los recursos con los que cuenta el Perú. Sin embargo, existen diversas propuestas direccionadas en su mayoría, a la utilización de NPs en la funcionalización de materiales a escala industrial, siendo la causa de esto, la falta de inversión en transferencia de tecnologías que permitan realizar proyectos de mayor complejidad. En este punto, cabe mencionar que el cobre tiene un papel “protagónico” en la mayoría de los proyectos propuestos, por su bajo costo, sus propiedades y por la riqueza que nuestro país tiene en este metal. Así, por ejemplo, se ha propuesto utilizar el cobre y su óxido en la funcionalización de diversos polímeros [4], para el tratamiento de aguas [5], elaboración de prendas de vestir [6] y la elaboración de perfiles plásticos con fines estructurales [5]. Sin embargo, el cobre nanoparticulado es muy reactivo y la preparación de los composites supone un problema por las temperaturas requeridas en procesos como la extrusión, inyección, termoformado y, aunque en el país también se ha propuesto la preparación in situ de las NPs durante estos procesos, no se ha explorado la posibilidad de utilizar NPs bimetálicas de Cu-Ag en forma de aleaciones o como NPs core@shell, para estabilizar térmicamente a las NPs de cobre (NPs Cu).

Al respecto, las NPs Cu recubiertas con plata (NPs Cu@Ag) son un tipo de material que aunque fue desarrollado hace ya varios años, hace poco ha tomado el interés de muchos grupos de investigación y del sector empresarial, debido al creciente ingreso de la nanotecnología al sector de la electrónica. Desde un punto de vista tecnológico y económico, con estas NPs se puede tener un efecto sinérgico entre las propiedades de los metales componentes y una mayor estabilidad de las NPs Cu, todo a un menor precio que si se utilizara solo plata y con resultados más eficientes que al utilizar solo cobre. Por otro lado, aun actualmente, no se ha logrado establecer un método que se pueda considerar como el más adecuado para la síntesis de este material y que asegure suficiente estabilidad térmica dentro de los rangos en los que se piensa usar. Adicionalmente, se tiene que la mayoría de los reportes sobre este tipo de NPs

están direccionados a la utilización de sus propiedades conductoras para la elaboración de circuitos y tintas conductoras, y no así con respecto a sus propiedades antibacteriales y antivirales.

En el contexto de lo expuesto anteriormente, la presente tesis trata sobre la síntesis y evaluación de la actividad antibacterial de NPs Cu@Ag. Se ha propuesto un método alternativo de síntesis, que combina las características de tres métodos existentes (Poliol, Pechini y recubrimiento no electrolítico), y se han evaluado las propiedades antibacteriales de NPs Cu@Ag frente a cepas estándar.

III. OBJETIVOS

Los principales objetivos del presente proyecto son los siguientes:

Objetivo General

- Sintetizar, caracterizar y evaluar las propiedades antimicrobiales de nanopartículas de cobre recubiertas con plata (Cu@Ag), obtenidas por electroless plating.

Objetivos específicos

- Sintetizar NPs Cu mediante la reducción con ácido cítrico y ácido ascórbico.
- Obtener NPs Cu@Ag recubriendo las NPs sintetizadas, utilizando el método de recubrimiento no electrolítico o electroless plating.
- Optimizar las dos etapas de síntesis mediante la variación de los principales parámetros implicados.
- Caracterizar las NPs Cu@Ag mediante DRX, UV-vis, FRX, FT-IR, DLS, MEB y MET.
- Evaluar la actividad antibacterial de las NPs Cu@Ag frente a cepas estándar adecuadamente seleccionadas.

IV. HIPÓTESIS

En la presente tesis se han propuesto las siguientes hipótesis:

La reducción de un precursor carboxílico de cobre utilizando ácido ascórbico y ácido cítrico en exceso, en presencia de PVP, permitirá obtener nanopartículas de cobre estables y con baja dispersión de tamaños, basándose ello en la reducción primaria de Cu^{2+} a Cu^{1+} con ácido ascórbico y la inmediata reducción de Cu^{+} a Cu^0 con ácido cítrico. Asimismo, el recubrimiento de las nanopartículas de cobre estará favorecido por el ambiente reductor y antioxidante en el que se encontraran estas, dando como resultado nanopartículas core@shell (Cu@Ag) altamente estables frente a la oxidación, con baja dispersión de tamaños y con una elevada actividad bactericida.

V. JUSTIFICACIÓN

El Cobre es producido en muchos países, entre ellos el Perú, y tiene una variedad de usos y aplicaciones que abarcan un abanico tan diverso como la versatilidad misma de este metal. Países de relevancia económica, tales como China, Estados Unidos, Japón, Alemania, Corea del Sur, Italia, Rusia y Francia, se ubican entre los principales usuarios de este metal, y su consumo anual ascendió a alrededor de 280.000.000 de toneladas en el 2015. En cuanto a nuestro país, el Cobre es uno de los principales productos que el Perú exporta, y uno de los que genera la mayor cantidad de divisas; permitiendo mejorar la balanza de pagos, generar empleos directos e indirectos, activar la cadena productiva y mediante los proyectos mineros lograr el desarrollo de Programas Sociales en Educación, Salud y Producción. Sin embargo, aunque nuestro país es el cuarto productor mundial de Cobre y el segundo en Latinoamérica, casi toda la producción de Cobre se exporta debido a la carencia de consumo interno.

Al respecto de los usos del cobre, cabe mencionar que alrededor del 66% de la demanda tiene como aplicación final el uso como componente eléctrico. Sin embargo, desde hace varios años se ha iniciado una tendencia en la utilización del cobre como material nanoparticulado, lo cual ha abierto un abanico de posibilidades en cuanto a las potenciales aplicaciones que se le pueden dar a este metal en tal estado. Así, se han publicado numerosos trabajos acerca de las aplicaciones de sus propiedades ópticas, conductoras y antibacteriales, siendo estas últimas reconocidas oficialmente desde el 2008 por la Agencia de Protección Ambiental (EPA).

Tomando como referencia lo expuesto anteriormente, la ejecución del presente proyecto de tesis se justifica en la posibilidad de darle un valor agregado a un metal que solo es exportado como materia prima pero que posee una enorme gama de aplicaciones potenciales que podrían aumentar enormemente su valor y generar mayores divisas para el país. Asimismo, se espera que el proyecto sirva para sentar las bases de futuras investigaciones relacionadas directa o indirectamente con el mismo.

VI. MARCO TEÓRICO

VI.1 Nanopartículas

Las nanopartículas (NPs) son materiales que exhiben propiedades únicas y diferentes de las observadas en sus análogos macrométricos. Así, materiales que a escala macrométrica son dieléctricos, a nivel nanométrico pueden presentar características magnéticas y fluorescentes, solo por dar un ejemplo. Estos materiales presentan una alta relación superficie/volumen, que es la principal responsable de sus propiedades únicas, ya que la mayoría se basa en efectos de superficie [7]. Tal condición hace que propiedades como la reactividad, la capacidad catalítica [8] y la conductividad eléctrica [9] de diversos materiales, principalmente metales, se incrementen enormemente en estado nanométrico.

Entre los diversos tipos de NPs, las metálicas son las que han sido más estudiadas por las interesantes propiedades ópticas [10], mecánicas [11], eléctricas [12], magnéticas [13] y catalíticas [14] que presentan. Tales propiedades las hacen ideales para aplicaciones como la catálisis [15], óptica [16], electrónica [17], optoelectrónica [18], el almacenamiento de información [19], sensores biológicos y moleculares [20], y la espectroscopía Raman de superficie mejorada, (ERSM) [21]. Este tipo de NPs presenta una propiedad denominada resonancia de plasmón superficial, que consiste básicamente en oscilaciones colectivas de electrones restringidos en pequeños volúmenes metálicos [22]. Por ejemplo, en las NPs de oro, plata y cobre la interacción con la luz ultravioleta causa un fuerte efecto de plasmón superficial observable como un pico de absorción en la espectroscopia ultravioleta-visible (UV-Vis).

En el presente estudio se hace énfasis en las nanopartículas de plata (NPs Ag), cobre (NPs Cu) y las de tipo core@shell de cobre-plata (NPs Cu@Ag).

VI.2 Métodos de Síntesis de Nanopartículas Metálicas

Las NPs metálicas pueden ser sintetizadas por diversos métodos, los cuales se pueden dividir en dos grandes grupos: Los métodos Bottom Up y los métodos Top Down [23].

VI.2.1 Métodos Top Down

Los métodos Top Down consisten en reducir el metal a tamaño nanométrico de forma mecánica, generalmente mediante un proceso de molienda o haciendo incidir un láser sobre una superficie metálica, como es el caso de la ablación láser [24]. Estos métodos no ofrecen un buen control de tamaño, morfología y dispersión del tamaño de las NPs, pero resultan más baratos y sencillos que los métodos químicos y son especialmente útiles cuando se requieren preparar grandes cantidades de polvos nanométricos.

VI.2.2 Métodos Botton Up

Los métodos Botton Up consisten en preparar las NPs partiendo desde el nivel atómico, mediante reacciones químicas, a partir de soluciones o metales en fase gaseosa (a partir de metales o complejos orgánicos de los mismos) [25]. Por lo general, se basan en la reducción directa o indirecta de un precursor metálico en un medio determinado (líquido o gaseoso), normalmente en presencia de un agente estabilizante que evite la aglomeración de las NPs formadas. De ese modo lo que se hace es formar centros de nucleación sobre los que se van adhiriendo átomos del metal en cuestión hasta formar NPs, siendo los medios líquidos los más usados para tal fin (Vía húmeda).

Estos métodos ofrecen un muy buen control del tamaño, forma y dispersión de las partículas pero resultan más caros que los Top Down ya que se requiere el uso de un cierto número de reactivos además del equipo necesario y las condiciones de reacción específicas para llevar a cabo las reacciones.

En cuanto a los métodos de síntesis, la preparación de NPs metálicas por vía húmeda requiere de tres componentes básicos: un precursor, un reductor y un

agente estabilizante. El precursor normalmente es una sal orgánica o inorgánica del metal, cuya naturaleza puede tener influencia en la formación, el crecimiento y la morfología de las NPs. Por ejemplo, los precursores carboxílicos cumplen un papel estabilizante en la formación de las NPs metálicas y dependiendo del tamaño de la molécula pueden influir en la morfología de estas e incluso pueden facilitar su formación cuando forman complejos como en el caso de la plata [26] y el cobre [27]. Los precursores más usados para las NPs Ag y Cu, son el AgNO_3 y el CuSO_4 respectivamente, aunque también se han usado otros de diversa naturaleza como carboxilatos, oxalatos, óxidos, cloruros, etc.

El agente reductor cumple la función de formar los centros de nucleación y los átomos metálicos para el crecimiento de las NPs. Cuando la reducción se da de manera directa, los agentes reductores pueden ser sustancias orgánicas o inorgánicas como la dimetilformamida (DMF) o el borhidruro de sodio (NaBH_4). Cuando la reducción se da de manera indirecta, los reductores son normalmente especies inestables, como por ejemplo intermedios de reacción, radicales libres, etc. La distribución y el tamaño de las NPs se pueden variar de acuerdo a si se usa un agente reductor fuerte o uno débil. Los reductores fuertes como NaBH_4 , LiAlH_4 , generan rápidamente muchos centros de nucleación, reduciendo la tasa de crecimiento de los mismos, por lo cual, si se tiene un calentamiento homogéneo y una adecuada concentración de agente estabilizante, es posible tener NPs con una dispersión muy estrecha y de menor tamaño. Este tipo de reductores sin embargo hacen menos controlable la reacción y en algunos casos se obtienen productos poco estables. Por otro lado, los reductores débiles como el ácido ascórbico (AA) y el ácido cítrico (AC) no generan centros de nucleación tan rápidamente pero permiten un mayor control de la morfología ya que el crecimiento de los cristales dura más y es posible tener NPs más pequeñas bajo condiciones convencionales, ya que la reacción es más controlada. Los agentes reductores más comunes para la preparación de NPs metálicas son el NaBH_4 , hidrazina (N_2H_4), ácido ascórbico (AA), ácido cítrico (AC), dimetilformamida (DMF), hidrogeno (H_2) y solventes como el etilenglicol (EG) en los métodos solvotermales. Adicionalmente se usan también hidruros metálicos como el NaH (específicamente

una mezcla de este y terc-butoxido de sodio, t-BuONa, donde el último actúa como activador del hidruro y promotor de la reducción) o el CaH_2 .

En cuanto al agente estabilizante, este es normalmente una molécula anfifílica o surfactante, cuya finalidad es la de evitar la aglomeración de las NPs y controlar su crecimiento. Estas moléculas se adsorben sobre la superficie de las NPs, impidiendo la deposición de más átomos metálicos, restringiendo de ese modo su crecimiento. Se suelen emplear sustancias como la polivinilpirrolidona (PVP), polietilenglicol (PEG), gelatina, quitosano, diversos ácidos grasos, aminas de cadena larga, tioles de cadena larga y matrices poliméricas en el caso de la denominada síntesis por plantilla (También denominada template synthesis). Por otro lado, algunas síntesis se llevan a cabo en ausencia de estas sustancias, basándose mayormente en el papel estabilizante del solvente y del anión asociado al precursor empleado.

La preparación de NPs puede darse por reducción directa o indirecta. Como ejemplos de métodos de reducción directa se tienen a la síntesis solvotermal, síntesis por microemulsión, electrosíntesis, síntesis en matriz polimérica y la síntesis simple por coprecipitación [28]. Estas rutas sintéticas, se basan en la reducción de los precursores metálicos por moléculas cuyo potencial de reducción es menor que el del ion metálico en cuestión y, el caso especial de la electrosíntesis, se aplica un voltaje para reducir a los iones metálicos.

Al respecto de los métodos de reducción indirecta, como ejemplos se pueden citar a la síntesis fotoquímica, síntesis asistida por microondas (MW), síntesis sonoquímica (US) y la síntesis radiolítica gamma. Estos métodos, suelen denominarse también métodos físicos ya que se emplean fuentes de radiación o pulsos ultrasónicos que crean condiciones de reacción especiales. Estas condiciones únicas pueden ser temperaturas y presiones extremas, calentamiento homogéneo, interacción de la radiación con las moléculas, etc. Tales efectos producen cambios químicos sobre el medio, como ruptura de moléculas y reacciones secundarias que no se llevarían a cabo en condiciones normales, las

cuales generan especies reductoras inestables que reaccionan con los iones metálicos.

VI.3 Técnicas de Caracterización Estructural

VI.3.1 Espectrofotometría UV-Vis

Es una técnica que ofrece una relativamente sencilla y efectiva forma de identificar y cuantificar compuestos orgánicos e inorgánicos. Opera bajo el principio de la absorción de fotones que promueven a las moléculas a estados excitados y, por tanto, es una técnica ideal para la determinación de propiedades electrónicas como la banda prohibida de un material [29]. Los espectrofotómetros UV por lo general tienen un diseño bastante sencillo y operan utilizando la ley de Lambert-Beer (Fig. 1).

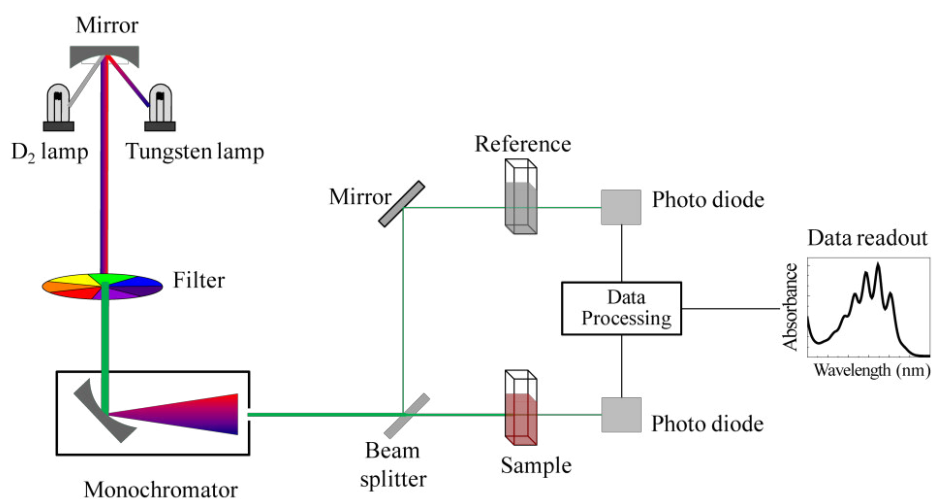


Figura 1. Esquema general de un espectrofotómetro UV [30]

Los análisis UV-Vis pueden ser llevados a cabo en NPs metálicas dispersas en un solvente o inmersas en una matriz aislante. En tales casos la absorción de la radiación incidente tiene lugar debido al efecto de resonancia de plasmón superficial (RPS) de las NPs. Los plasmones superficiales son esencialmente ondas de luz atrapadas en la superficie debido a la interacción con los electrones libres del metal [31].

Cada tipo de NPs metálicas presenta una banda característica de RPS que aparece a una longitud de onda específica que depende de la naturaleza del metal, la matriz, el tamaño de las NPs y la distribución de las mismas. Así, la absorción de fosfinas sobre NPs Ag, provoca el ensanchamiento de la banda y un desplazamiento hacia el azul. En el caso de NPs de oro protegidas con alcanotiolatos, un cambio en el índice de refracción del solvente causa un desplazamiento hacia el rojo [32]. Estos ejemplos muestran que la quimisorción, la desorción de ligandos y otras reacciones superficiales similares, también pueden afectar la forma y la posición de la banda de RPS.

Cabe notar que la fuerte banda de absorción de plasmón superficial de las NPs metálicas, no se observa en los espectros de sus contrapartes macroscópicas.

Los espectros UV-Vis pueden dar también información acerca de propiedades ópticas dependientes del tamaño, particularmente a escala nanométrica y atómica. Esto se puede observar como ensanchamientos de las bandas y/o desplazamientos de las mismas. Cuando el tamaño de las NPs aumenta, el máximo de absorción se desplaza hacia longitudes de onda mayores y el ancho de banda crece [31].

En el caso específico de las NPs tipo core-shell de metales, los espectros UV-vis muestran (por lo general) una única banda de RPS, situada entre las longitudes de onda características de los plasmones de los metales que constituyen las NPs (lo cual depende a su vez del medio y de los demás factores ya mencionados antes). La longitud de onda a la que aparece la banda de RPS depende principalmente de la composición de las NPs, la eficiencia del recubrimiento, el grosor de la capa depositada sobre los núcleos y la morfología de la misma. Así, cuando la capa depositada sobre los núcleos es suficientemente delgada, la banda de RPS, aunque aparece más cerca a la longitud de onda correspondiente al metal depositado, presenta un desplazamiento hacia la longitud de onda que corresponde al metal que actúa como núcleo, debido a una mayor exposición de la superficie interna y a un efecto de acoplamiento de plasmones. Por otro lado, si la capa depositada es demasiado ancha, la banda de RPS coincide con la del metal

externo. En relación a ello se puede citar el trabajo de Chang y su equipo, quienes sintetizaron NPs Au@Ag sobre un sustrato de silicio, evaluando mediante espectroscopia UV-vis (además de otras técnicas), la influencia de la cantidad usada de AgNO_3 sobre las propiedades ópticas de las NPs (Fig. 2).

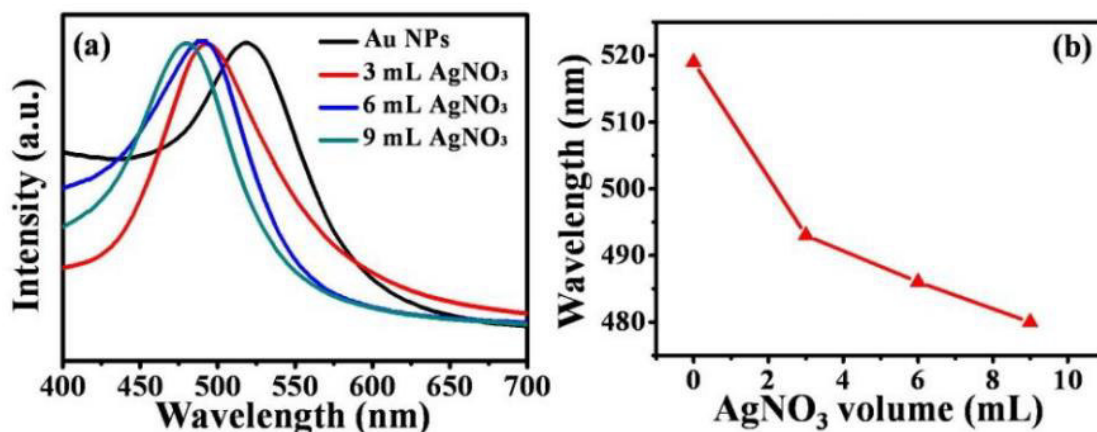


Figura 2. Espectros UV-vis de NPs Au@Ag (a) y longitud de onda de máxima absorbancia del plasmón en función del volumen de AgNO_3 utilizado (b) [33]

En el trabajo de Chang se puede observar claramente como al incrementar la cantidad de AgNO_3 , la banda del plasmón superficial se desplaza a longitudes de onda menores, debido al aumento del grosor de la capa de plata depositada sobre el núcleo de oro.

El mismo efecto se observa en NPs Cu@Ag. Como ejemplo, tómese el trabajo de Zhang, donde se observa que el espectro UV de las NPs (Fig. 3) solo presenta una banda a aproximadamente 400 nm, debido al grosor de la capa de plata depositada sobre el núcleo de cobre.

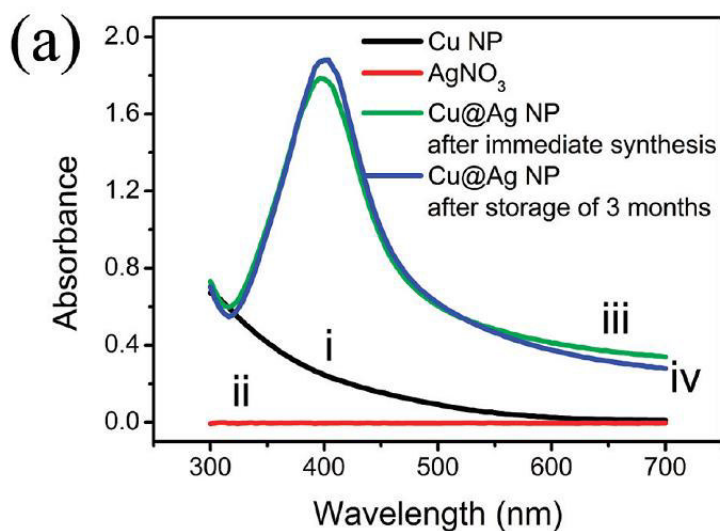


Figura 3. Espectro UV-Vis típico de NPs Cu@Ag [34]

VI.3.2 Difracción de Rayos X (DRX)

Es una técnica de rutina, utilizada en diversas áreas de la ciencia para la caracterización de sólidos cristalinos y la determinación de su estructura. Cuando los rayos X interactúan con una fase cristalina, se genera un patrón de difracción como resultado de la interacción entre los rayos incidentes y la estructura atómica del sólido. Cada sólido cristalino tiene una estructura atómica única y por lo tanto tiene también un patrón de difracción único y característico. Estos patrones pueden ser usados como “huellas dactilares” para la identificación de fases cristalinas [35].

Una vez que el material es identificado, los patrones obtenidos se pueden utilizar para determinar su estructura. Cuando los rayos X interactúan con átomos en dos planos y la diferencia de los caminos ópticos entre los rayos es igual a un múltiplo entero de la longitud de onda de la radiación, para un ángulo de incidencia determinado, ocurre una interferencia constructiva [36]. La ley de Bragg describe las condiciones para la interferencia constructiva en ciertas direcciones y la producción de rayos X dispersados y difractados.

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (\text{Ecu. VI.1})$$

Donde n es un número entero, λ es la longitud de onda de los rayos x, d es la distancia de separación entre dos planos atómicos y θ es el ángulo de incidencia. Esta es la relación básica entre la distancia entre dos planos atómicos, la longitud de onda y el ángulo de incidencia en un análisis de difracción, conocida como ley de Bragg (Fig. 4).

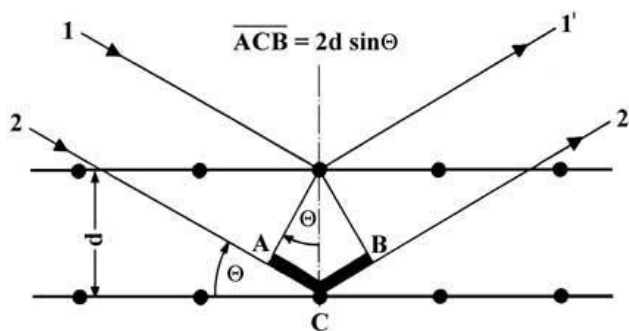


Figura 4. Representación gráfica de la ley de Bragg [37]

Los difractogramas de NPs metálicas por lo general son idénticos a los de sus congéneres micrométricos aunque a veces pueden presentar picos ligeramente más ensanchados y con un pequeño corrimiento. En el caso de NPs tipo core@shell, los difractogramas suelen mostrar los picos más intensos de los metales que constituyen las NPs y los corrimientos a veces son más notorios debido a una ligera mezcla de fases (que a su vez es mayor en NPs tipo aleación), cuya magnitud depende las condiciones específicas de cada proceso sintético.

Las NPs Cu@Ag generalmente presentan picos a valores de 2θ de aproximadamente $43,316^\circ$, $50,448^\circ$ y $74,124^\circ$ para los planos (1 1 1), (2 0 0) y (2 2 0) del cobre respectivamente y, en el caso de la fase de plata, a valores de $38,114^\circ$, $64,441^\circ$ y $77,395^\circ$, correspondientes a los planos (1 1 1), (2 2 0) y (3 1 1). [38]. Como ejemplo, se puede tomar el difractograma presentado en el trabajo de Chen y su equipo (Fig. 5), donde se pueden apreciar claramente todos los picos mencionados.

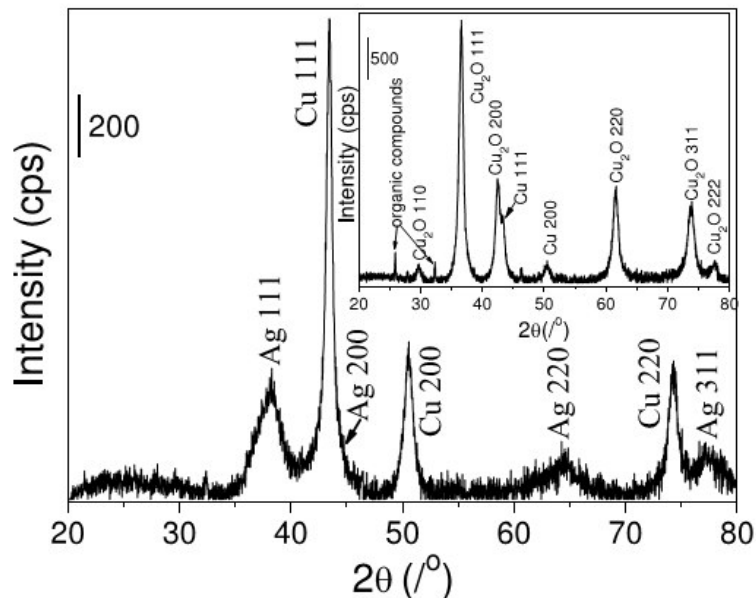


Figura 5. Difractograma de NPs Cu@Ag preparadas con microondas [39]

VI.3.3 Fluorescencia de Rayos X (FRX)

La fluorescencia de rayos X (FRX) consiste en emisión de rayos X secundarios (o fluorescentes) característicos de un material que ha sido excitado al ser “bombardeado” con rayos X de alta energía o rayos gama. El término fluorescencia se usa para denominar el fenómeno por el cual la absorción de radiación de una energía específica genera reemisión de radiación de una energía diferente, generalmente menor. Este fenómeno es muy utilizado para análisis elemental y análisis químico, particularmente en la investigación de metales, vidrios, cerámicos y materiales de construcción, así como en la de geoquímica, ciencia forense y arqueología [40]. En la figura 6 se muestra el esquema general de un equipo de FRX.

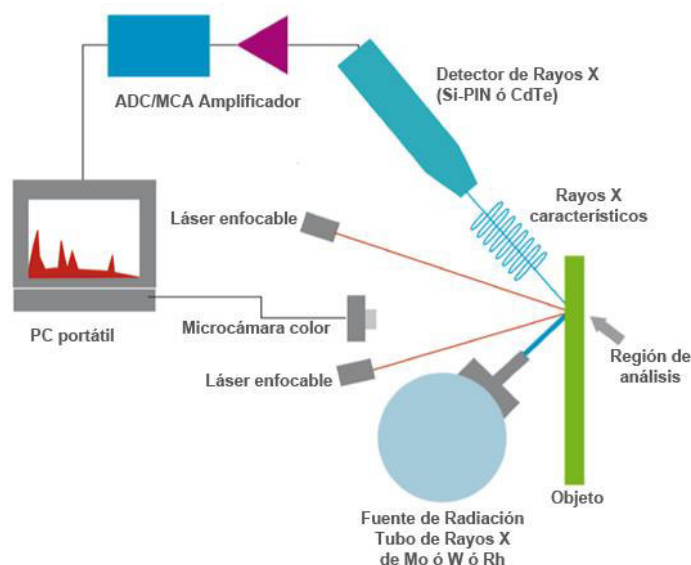


Figura 6. Esquema general de un equipo de FRX [41]

El fundamento de esta técnica radica en la existencia de un sistema atómico con distintos niveles de energía y las posibles transiciones electrónicas entre ellos. Así, al exponer un material a rayos X de longitudes de onda cortas, los átomos que lo constituyen pueden ionizarse si la energía de la radiación incidente excede la del potencial de ionización de los átomos. Cuando los electrones de las capas internas son expulsados de un átomo, los electrones de las capas con menor energía de enlace llenan los huecos, pudiendo liberar radiación X equivalente a la diferencia de energía existente entre los niveles energéticos donde se encontraban los electrones. Los rayos X liberados durante esta transición son característicos de cada elemento y tienen una energía específica (± 2 eV) que depende de las transiciones producidas dentro del átomo. Así, si se bombardea una muestra determinada con radiación cuya energía supere la energía de enlace de los electrones de los átomos de los cuales está compuesta la muestra, y se detecta la energía y el número de rayos X característicos emitidos por cada elemento, es posible determinar la composición y las concentraciones proporcionales de dichos elementos.

Cuando la energía de la radiación X que incide sobre un átomo es igual o mayor que la energía del nivel K, por ejemplo, puede producirse la expulsión de un

En este punto, cabe notar que aunque el número de radiaciones características posibles para cada elemento es grande, en la práctica la intensidad de muchas de ellas es muy pequeña (ya que probabilidad de que se produzca la transición electrónica que las origina es muy pequeña) y no se pueden registrar con los equipos de medida; además, el número de radiaciones que se registran se limita todavía más, debido a que la diferencia de energía entre algunas de ellas es tan pequeña que aparecen juntas. Esto hace que en la práctica, el espectro característico de un elemento se reduzca a dos o tres a radiaciones de la serie K, y de cuatro a diez de la serie L. Las radiaciones de la serie M en la zona normal de trabajo únicamente suelen aparecer para los elementos más pesados.

Existen dos métodos comunes de espectroscopia de rayos X: Fluorescencia de rayos X de longitud de onda dispersiva (FRX-LOD o WD-XRF por sus siglas en inglés) y fluorescencia de rayos X de energía dispersiva (FRX-ED o ED-XRF por sus siglas en inglés) [44]. La principal diferencia entre ambos métodos es la manera en que los rayos X son medidos. La FRX-LOD usa un cristal para difractar los rayos X a distintas longitudes de onda, y los detectores son posicionados en varios ángulos para medir el número de rayos X difractados en cada ángulo. También se puede usar un solo detector si se lo mueve de manera que cubra todos los ángulos, ya que cada rayo con una energía determinada sale del cristal con un ángulo distinto.

En la FRX-ED se usa un detector que colecta todos los rayos de todas las energías y los ordena de acuerdo a la cantidad de electrones liberados que chocan en la red del detector, hecha normalmente de silicio [44]. El número de electrones contados depende de la energía del rayo X incidente y de la interacción particular que dicho rayo tenga con red del detector. Para determinar de manera precisa la energía de los rayos X, el efecto de cada uno de los electrones producidos en cada evento que ocurre en el detector se convierte finalmente en una señal digital. Por tanto, el detector mide un rayo X a la vez. El resultado final es un espectro de energía vs cuentas en el que se aprecian las líneas características de cada elemento presente en la muestra (Fig. 8).

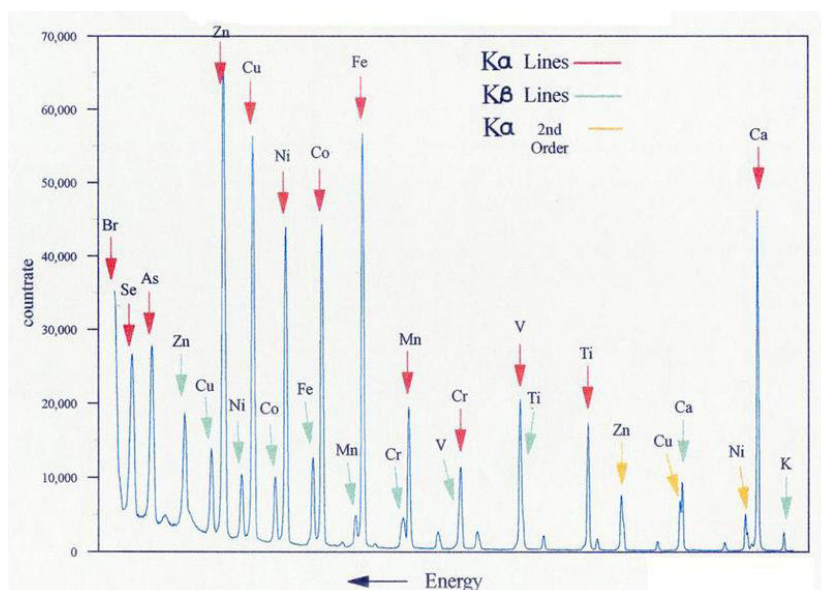


Figura 8. Espectro típico de FRX-ED [45]

Para el análisis de NPs, la fluorescencia de rayos X se usa generalmente en conjunto con la microscopía electrónica de barrido (MEB) y la microscopía electrónica de transmisión (MET). En tales equipos, los microscopios poseen un detector denominado EDS (espectroscopia de energía dispersiva o energy dispersive spectroscopy) que permite detectar los rayos X producidos por la interacción del haz de electrones del microscopio con los electrones de la muestra. Así, además de analizar morfológicamente la muestra, es posible estudiar su composición al mismo tiempo.

Las muestras de NPs Cu@Ag pueden presentar diversas líneas de emisión de fluorescencia, dependiendo de la energía de los rayos X utilizados. En la figura 9 se muestra como ejemplo, el espectro de fluorescencia de una muestra de NPs Cu@Ag, donde se pueden observar la línea $L\alpha_1$ de plata a 2,984 keV y la línea $K\alpha_2$ de cobre a 8,027 keV.

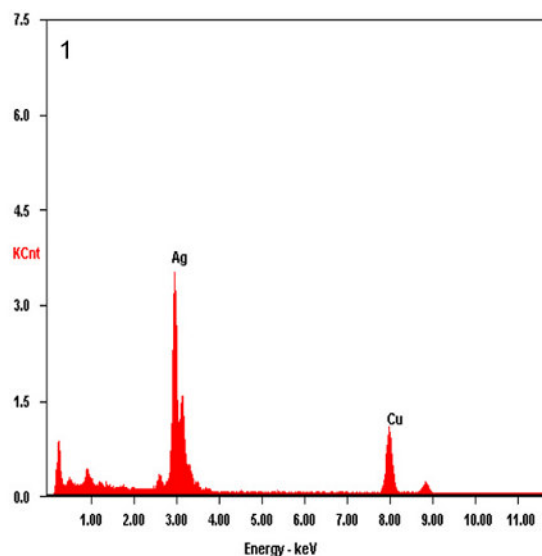


Figura 9. Espectro de FRX-ED de NPs Cu@Ag [46]

VI.3.4 Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)

MEB (término usado también para referirse al microscopio electrónico de barrido) o SEM (Scanning electron microscopy) es un tipo de microscopia electrónica capaz de producir imágenes de alta resolución de la superficie de una muestra. Fue desarrollada para sobrepasar las limitaciones de la microscopia óptica y proveer una magnificación y resolución muy superior a los sistemas ópticos.

La MEB es una poderosa herramienta para examinar e interpretar la microestructura de diversos materiales y es usada ampliamente en la ciencia de materiales. El principio del MEB se basa en la interacción entre un haz de electrones y la superficie del material objetivo, el cual debe ser un sólido.

Debido a la manera de cómo se crean las imágenes en el MEB, estas tienen una característica apariencia tridimensional que es bastante útil para analizar la superficie de una muestra determinada. El filamento (cañón de electrones) usado en la MEB genera un haz de electrones en el interior de una cámara de vacío, donde las muestras son colocadas para su análisis. El haz es colimado por lentes condensadoras electromagnéticas, enfocado por lentes objetivo y barrido a través

de la superficie de la muestra mediante bobinas electromagnéticas de detección [47]. En la figura 10 se muestra un esquema general de un MEB.

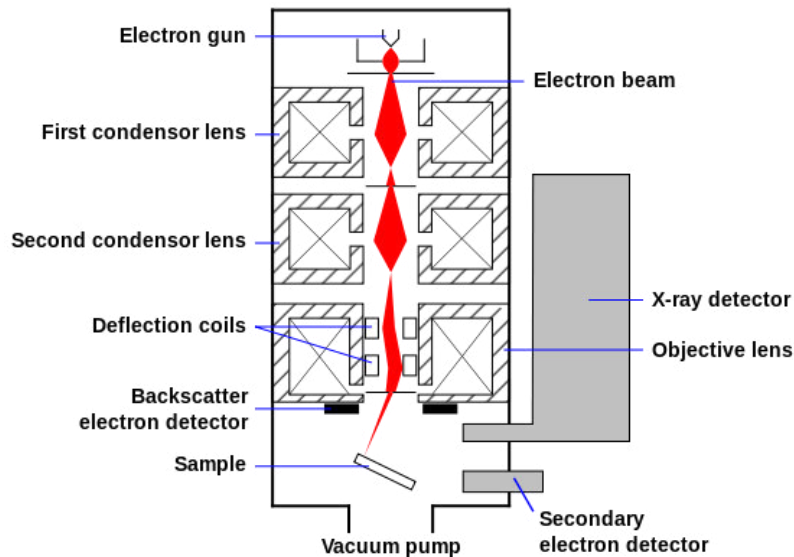


Figura 10. Esquema general de un microscopio electrónico de barrido [48]

El método primario de formación de imagen se basa en la recolección de electrones secundarios que son liberados por la muestra. Los electrones secundarios son recolectados por un material de centelleo que produce destellos de luz al contacto con los electrones. Los destellos de luz son detectados y amplificados por un tubo fotomultiplicador. Así, mediante la correlación entre la señal emitida y la posición de escaneo del haz sobre la muestra, se puede formar una imagen en blanco y negro que es absolutamente similar a las que se pueden observar en los microscopios ópticos, gracias al efecto de iluminación y oscurecimiento de la superficie de la muestra por los electrones [47].

La MEB es una herramienta muy versátil debido a los diversos modos complementarios de formación de imagen que existen, tales como:

1) Formación de imagen por detección de la corriente en la muestra: Se basa en la detección de la intensidad de la corriente eléctrica inducida en la muestra, por el haz de electrones, para formar una imagen. Se suele usar para observar defectos por debajo de la superficie de la muestra.

2) Formación de imagen por retrodispersión: Se basa en la detección de electrones de alta energía retrodispersados, es decir, aquellos que emergen con un ángulo de casi 180° con respecto a la dirección del haz. El rendimiento de los electrones retrodispersados es una función del número atómico promedio de cada punto en la muestra, y por lo tanto puede proporcionar información composicional.

La amplificación o magnificación en un MEB puede ser controlada en un rango de 6 órdenes de magnitud, de 10 a 500000 veces. A diferencia de los microscopios electrónicos y ópticos de transmisión, la ampliación de la imagen en el MEB no es una función de la potencia de los lentes objetivo. Los MEB pueden tener lentes condensadores y objetivo, pero su función es enfocar el haz en un punto, y no a la imagen de la muestra. Considerando que el cañón de electrones puede generar un haz con un diámetro suficientemente pequeño, un MEB podría, en principio, operar en su totalidad sin lentes condensadores y objetivo. Sin embargo no sería muy versátil ni se lograría una resolución muy alta. En un MEB, como en la microscopía de fuerza atómica (MSB o AFM por sus siglas en inglés), la ampliación es el resultado del aumento de la relación de las dimensiones de cuadrícula en la muestra y la cuadrícula en el dispositivo de visualización. Suponiendo que la pantalla tiene un tamaño fijo, es posible tener una mayor magnificación mediante la reducción del tamaño de la cuadrícula en la muestra, y viceversa. Por lo tanto, la magnificación es controlada por la corriente suministrada a la bobinas deflectoras y no por la potencia del lente objetivo [49].

En el campo de la nanociencia, la MEB tiene gran relevancia ya que permite estudiar adecuadamente la morfología (debido al efecto 3D del contraste) de diversos tipos de nanomateriales y también su composición cuando el equipo cuenta con un detector EDS como se mencionó en el apartado III.3.3 sobre FRX. En la Figura 11 se muestra la micrografía MEB de una muestra de NPs Cu@Ag

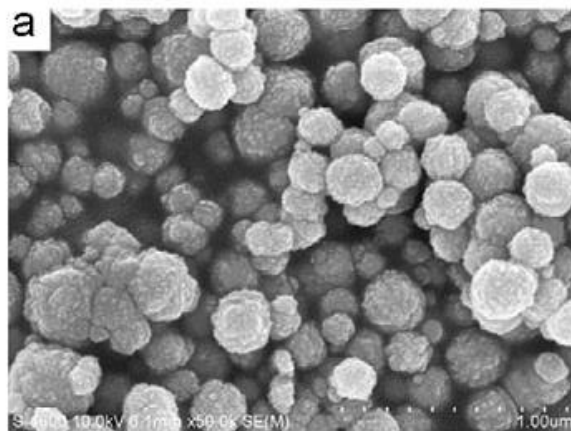


Figura 11. Imagen MEB de NPs Cu@Ag [46]

Actualmente se encuentran en el mercado microscopios capaces de realizar mediciones a diversos rangos de presión, permitiendo incluso realizar análisis a presión ambiental. Así, por ejemplo, los microscopios de la línea Quanta de la marca FEI (Field electron and ion Co.) permiten realizar tales análisis y poseen además diversos modos de muestreo.

VI.3.5 Microscopia Electrónica de Transmisión (MET)

La microscopia electrónica de transmisión, MET (aunque el termino también se usa para designar al propio microscopio), es una de las herramientas más importantes de la nanotecnología para la observación de nanomateriales con resolución subnanométrica (MET de alta resolución, METAR o HRTEM por sus siglas en ingles). En esta técnica la imagen de una muestra muy delgada es formada por un haz de electrones, el cual es irradiado a través de la muestra, a una densidad de corriente uniforme. El voltaje típico de aceleración en un MET operativo es de 80-200kV. Los electrones son emitidos mediante cañones de electrones termiónicos (filamentos de tungsteno o hexaboruro de lantano) o de emisión de campo (filamento de tungsteno). La apertura de iluminación y el área iluminada de la muestra son controladas por un conjunto de lentes condensadoras. La función de la lente objetivo es crear la imagen o formar el patrón de difracción de la muestra. Los patrones de difracción de electrones (modo de difracción) sirven para determinar la estructura cristalográfica de la muestra. El

modo de imagen se utiliza para estudiar el tamaño, morfología y distribución de NPs. La distribución de la intensidad de los electrones detrás de la muestra, es magnificada por un sistema de tres o cuatro lentes y observadas en una pantalla fluorescente. La imagen es capturada en un plate fotográfico o cámara CCD [50]. En la figura 12 se muestra un esquema general de un MET.

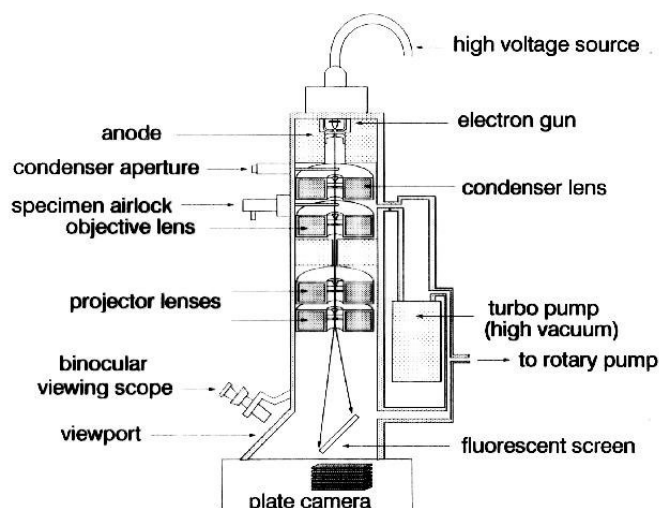


Figura 12. Esquema general de un microscopio electrónico de transmisión [51]

La capacidad de análisis de los MET ha sido mejorada significativamente mediante la integración de diversas técnicas avanzadas con el instrumento. Entre estas técnicas se incluyen la espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDX- Energy dispersive X-ray) y/o la espectroscopia de pérdida de energía electrónica (EPEE o EELS por su nombre en inglés, electron energy-loss spectroscopy).

Actualmente hay una creciente demanda de la producción de imágenes con resolución atómica en las que se puedan visualizar los arreglos estructurales de materiales cristalinos. En ese sentido, se necesita una muy alta magnificación para obtener imágenes a escala atómica con alta resolución y una muy conocida técnica para ello, es la METAR [52]. Al respecto, además de un alto voltaje de magnificación, se deben controlar muchos otros factores para obtener una imagen METAR de buena calidad. Primero, la alineación de la columna debe llevarse a cabo lo más precisamente posible. Este paso incluye el alineamiento del cañón de

electrones y las lentes condensadoras y la corrección del astigmatismo de las lentes condensadoras y objetivo. En segundo lugar, en un METAR solo se puede tener la imagen de la estructura cristalina de una material si se satisfacen ciertas condiciones, entre las cuales está la elección de un enfoque correcto, lo cual es un paso crucial.

La MET al igual que la MEB tiene gran importancia en la caracterización de nanomateriales y debido a su mayor resolución permite estudiar nanoestructuras más pequeñas. Sin embargo, debido a que las imágenes producidas no tienen la característica apariencia 3D de las imágenes MEB, este tipo de microscopia se usa generalmente para hacer estudios de distribución de tamaños. En la Figura 13 se muestra la micrografía MET de una muestra de NPs Cu@Ag

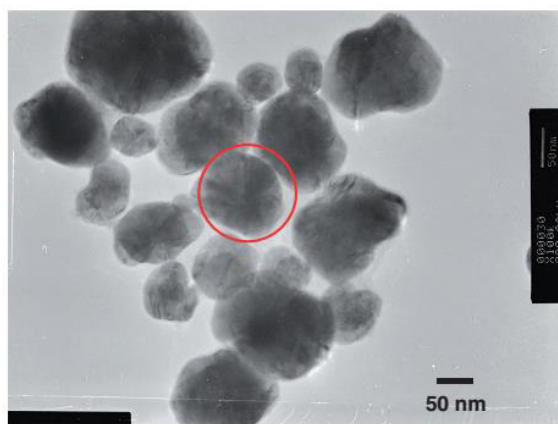


Figura 13. Imagen MET de NPs Cu@Ag [53]

VI.3.6 Dispersión dinámica de luz (DLS)

La dispersión dinámica de luz (llamada algunas veces espectroscopia de correlación de fotones, dispersión de luz cuasi elástica o DLS por las siglas en ingles de “dynamic light scattering”) es una técnica utilizada para obtener perfiles de distribución de tamaños de partículas en suspensión o macromoléculas en solución [54]. Se basa en la variación en el tiempo de la intensidad de la luz dispersada por partículas afectadas por el movimiento browniano.

En 1964, Pecora demostró que las fluctuaciones temporales de la intensidad de luz contenían información del movimiento de las partículas, o más precisamente, del coeficiente de difusión traslacional D . Entonces, conociendo las relaciones matemáticas entre D y el diámetro $d(H)$ de la partícula, es posible calcular este último [55].

En un experimento de DLS, una muestra diluida (de nanopartículas, por ejemplo) es irradiada con un haz de luz láser de longitud de onda λ_0 . El movimiento Browniano de las partículas en suspensión origina fluctuaciones temporales en la intensidad de la luz dispersada, $I_{\theta}(t)$, a un ángulo de medición, θ_r , como se indica esquemáticamente en la fig. 14.

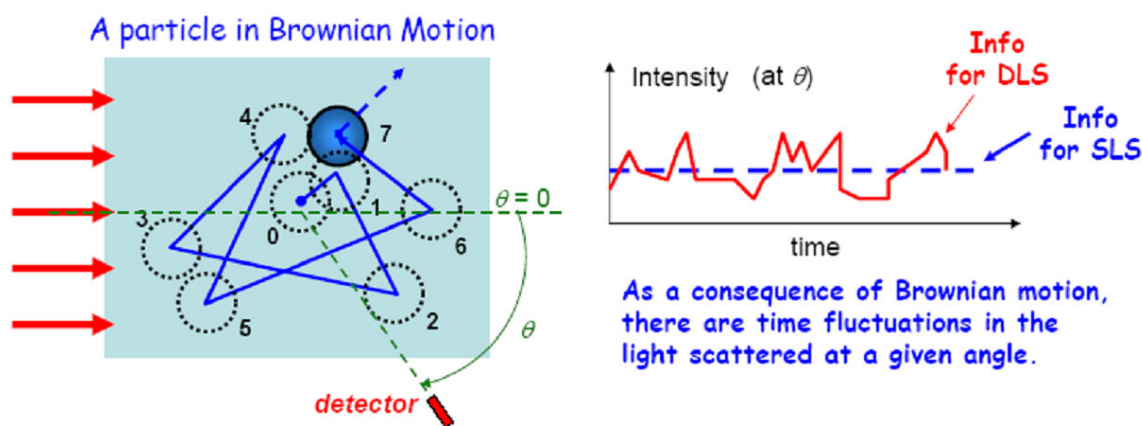


Figura 14. Esquema del movimiento browniano y las fluctuaciones de intensidad de luz que causa**. SLS: Static light scattering (Dispersión estática de luz) [56]

El campo eléctrico dispersado (que depende de la posición) cambia constantemente, entonces la intensidad de luz fluctúa en el tiempo (la intensidad de luz dispersada es proporcional al módulo del campo eléctrico al cuadrado). Las fluctuaciones de la intensidad de luz son inversamente proporcionales al coeficiente de difusión traslacional de las partículas (con las pequeñas partículas moviéndose más rápidamente que las partículas más grandes) como se muestra

** Vista de esa manera, la intensidad de luz puede pensarse como compuesta por dos partes: i) una promediada en el tiempo; y ii) otra variable (o fluctuante) en el tiempo.

en la fig. 15, donde se observa que las fluctuaciones son de mayor frecuencia para partículas más pequeñas que se mueven rápidamente.

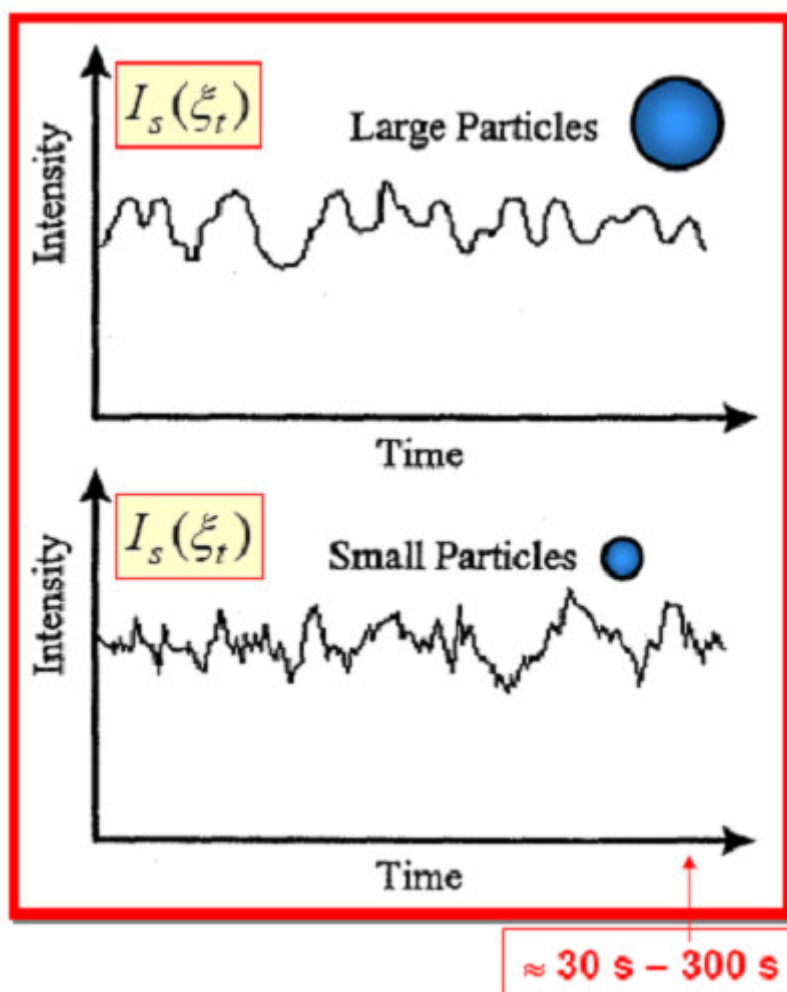


Figura 15. Fluctuaciones de intensidad típicas para partículas grandes y pequeñas
[56]

En un análisis DLS, se necesita una medición precisa de la temperatura, por cuanto la viscosidad está relacionada con dicho parámetro, y por la evidente influencia de esta sobre el movimiento browniano de las partículas en estudio. Adicionalmente es necesario mantener estable la temperatura.

La velocidad del movimiento browniano está definida por parámetro denominado coeficiente de difusión traslacional y simbolizado por la letra D . El tamaño de las

partículas se calcula a partir de dicho coeficiente, usando la ecuación de Stokes – Einstein:

$$d(H) = \frac{kT}{3\pi\eta D} \quad (Ecu.VI.2)$$

Dónde:

$d(H)$ = Diámetro hidrodinámico

D = Coeficiente de difusión traslacional

k = Constante de Boltzman

T = Temperatura absoluta

η = Viscosidad

El diámetro así calculado es el “diámetro hidrodinámico”, es decir el diámetro de una esfera con el mismo coeficiente de difusión traslacional que las partículas en estudio. Cabe notar que el coeficiente de difusión traslacional no solo depende del tamaño de las partículas en cuestión, sino también de defectos y estructuras superficiales y de la concentración de los iones presentes en el medio de estudio (fuerza iónica).

El tipo de iones y su concentración, pueden afectar la velocidad de difusión mediante el cambio del tamaño de la doble capa eléctrica, denominado longitud de Debye. Así, un medio con baja conductividad producirá una doble capa de iones extendida alrededor de la partícula, teniendo como consecuencia una reducción de la velocidad de difusión y un incremento del diámetro hidrodinámico. De manera opuesta, en un medio con alta conductividad la doble capa eléctrica se verá suprimida y el diámetro hidrodinámico reportado será menor. Por otro lado, cualquier cambio en la estructura de una partícula puede afectar su velocidad de difusión lo cual se traducirá en un cambio de su tamaño aparente. De esa manera, una capa polimérica adsorbida sobre la superficie de una partícula, disminuirá su

velocidad de difusión más que si el polímero la estuviese rodeando sin presentar ningún tipo de adsorción. Adicionalmente, se tiene que la concentración de los iones presentes puede afectar la conformación de la capa polimérica, lo cual puede a su vez cambiar el tamaño aparente reportado, en varios nanómetros [57].

La técnica DLS es una importante herramienta para la caracterización del tamaño de nanopartículas y para la determinación grado de aglomeración de nanopartículas como una función del tiempo. El grado de aglomeración se puede determinar comparando los resultados del DLS con imágenes MET de la siguiente manera: En un sistema sin aglomeración, el diámetro medido con el DLS será similar o ligeramente mayor que el tamaño determinado por MET, mientras que en un sistema con aglomeración, el diámetro medido por DLS es generalmente mucho mayor que el medido por MET, y la distribución obtenida puede tener altos índices de polidispersión (alta variabilidad de tamaños). Los equipos actuales de DLS permiten caracterizar muchos sistemas coloidales en un rango aproximado de 0,1 nm a decenas de micrones.

VI.3.7 Espectroscopia infrarroja (IR)

Es un tipo de espectroscopia que se basa en el uso de la región infrarroja del espectro electromagnético para la caracterización (junto con otras técnicas) y cuantificación de diversas sustancias, orgánicas e inorgánicas. Es usada para obtener información acerca de la estructura de diversas sustancias o para determinar la pureza de un compuesto conocido.

La espectroscopia infrarroja se basa en el hecho de que las moléculas tienen frecuencias a las cuales rotan y vibran, es decir, los movimientos de rotación y vibración moleculares tienen niveles de energía discretos (modos normales vibracionales). Las frecuencias resonantes o frecuencias vibracionales son determinadas por la forma de las superficies de energía potencial molecular, las masas de los átomos y, eventualmente por el acoplamiento vibracional asociado [58]. Para que un modo vibracional en una molécula sea activo al IR, debe estar asociado con cambios en el dipolo

permanente. En particular, en las aproximaciones de Born - Oppenheimer y armónicas, por ejemplo, cuando el Hamiltoniano molecular correspondiente al estado electrónico puede ser aproximado por un oscilador armónico en la vecindad de la geometría molecular de equilibrio, las frecuencias resonantes son determinadas por los modos normales correspondientes a la superficie de energía potencial del estado electrónico de la molécula. Sin embargo, las frecuencias resonantes pueden estar en una primera aproximación relacionadas con la fuerza del enlace, y la masa de los átomos a cada lado del mismo. Así, la frecuencia de las vibraciones puede ser asociada con un tipo particular de enlace.

Las bandas de absorción en el infrarrojo no son altamente estrechas y hay varios factores que contribuyen al ensanchamiento de estas. Para gases, se tiene el efecto Doppler, en el cual la radiación cambia de frecuencia cuando la fuente de la misma se mueve hacia o lejos del observador. También se tienen ensanchamiento de bandas debido a colisiones entre moléculas. Otra fuente de ensanchamiento es el limitado tiempo de vida de los estados implicados en una transición específica [58].

En el espectro IR hay tres regiones que son de interés. Los rangos de estas se pueden expresar en longitudes de onda o en números de onda. Las regiones son: IR cercano (IRC o NIR por sus siglas en inglés), IR medio (IRM o MIR por sus siglas en inglés) e IR lejano (IRL o FIR por sus siglas en inglés). Sus rangos se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Rangos de las 3 regiones del espectro infrarrojo, en longitud de onda y número de onda

Región	Rango en μm	Rango en número de onda (cm^{-1})
IRC	0,7 - 2,5	14000 - 4000
IRM	2,5 - 25	4000 - 400
IRL	25 - 300	400 -10

La primera región (IRC) permite el estudio de sobretonos y vibraciones armónicas o combinadas. Con el IRM se estudian vibraciones fundamentales y la

rotación – vibración de la estructura de pequeñas moléculas. Por su parte el IR lejano requiere el uso de fuentes y materiales ópticos especiales. Es utilizado para el análisis de compuestos orgánicos, inorgánicos u organometálicos que contengan átomos pesados (masa atómica superior a 19) y proporciona información útil en estudios estructurales [59]

La gran mayoría de moléculas presenta bandas de absorción en el IRM y por ello la espectroscopia asociada a esta región es la más usada. Cabe indicar también que la mayoría de las absorciones intensas observadas en un espectro en el IRM, corresponden a transiciones fundamentales [60]. Como ejemplo, en la figura 16 se muestra el espectro IR de una muestra de ácido L- ascórbico, obtenido usando KI como soporte.

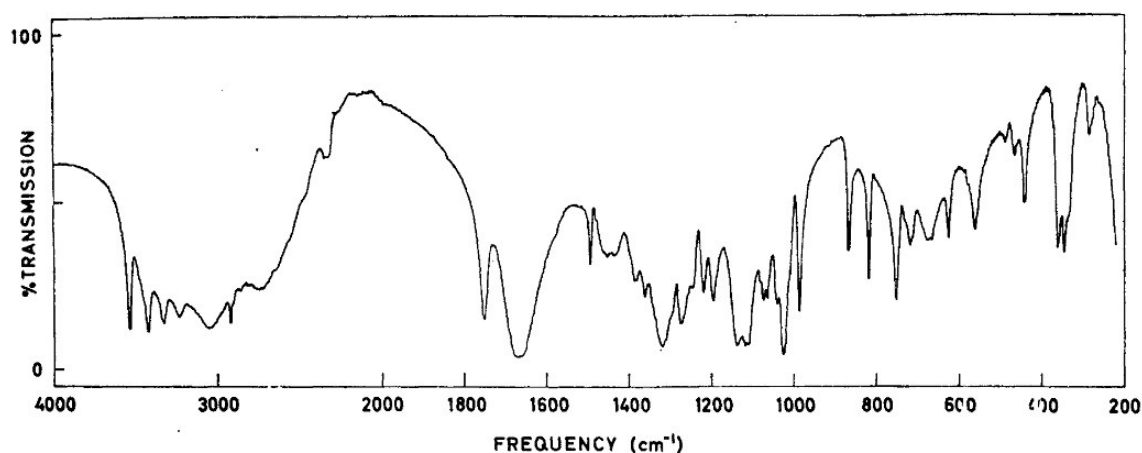


Figura 16. Espectro IR de una muestra de octano [61]

En el caso de NPs metálicas en general, la espectroscopia IR se emplea para estudiar la capa orgánica protectora que generalmente cubre a las mismas o que las funcionaliza de algún modo. Así, es posible determinar, por ejemplo, si el agente protector ha formado algún tipo de complejo en la superficie del metal, ha reaccionado durante el proceso de síntesis o luego de un tratamiento térmico, o simplemente si aún se encuentra presente luego del lavado de las NPs. Se puede tomar como ejemplo el trabajo de Zhao y su grupo, quienes sintetizaron NPs Cu@Ag, usando β -ciclodextrina como agente protector. El espectro IR obtenido

luego del lavado de las NPs (Fig. 17), indicó que la β -ciclodextrina había sido aparentemente removida en su totalidad.

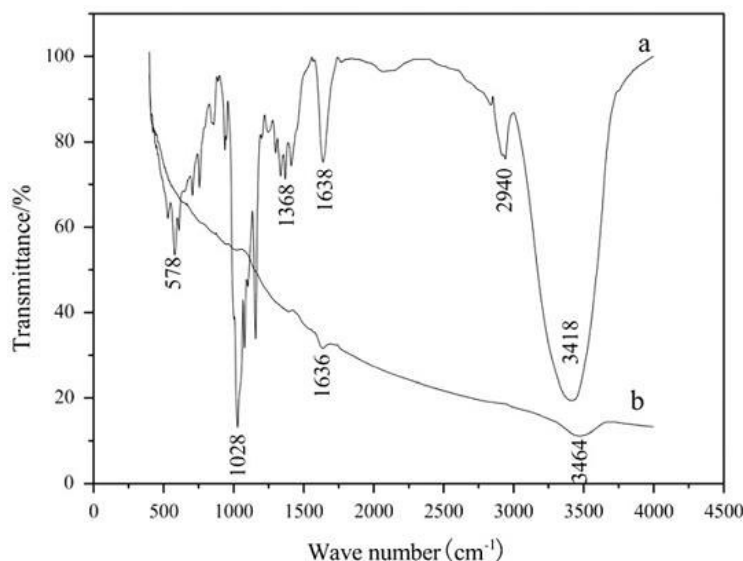


Figura 17. Espectro IR de la β -ciclodextrina (a) y de las NPs Cu@Ag (b) [46]

VI.4 Nanopartículas de cobre

El cobre, al igual que otros metales nobles, presenta alta conductividad térmica y eléctrica, lo cual lo hace un candidato perfecto para su aplicación en sistemas electrónicos y tintas conductoras. Así, en los últimos años, las NPs Cu han atraído mucho el interés de diversos grupos de investigación (en comparación con las demás NPs metálicas) debido a que poseen propiedades muy útiles y similares a las de las NPs de oro y plata, pero a un menor costo. De esta manera, el cobre, a nivel macro y nanométrico, presenta propiedades bactericidas que pueden ser utilizadas para la elaboración de materiales con características antibacteriales, a un menor precio que con NPs Ag. Sin embargo, las NPs Cu son altamente reactivas, por lo cual la principal dificultad de su síntesis es la facilidad con que tienden a oxidarse, formando Cu_2O y/o CuO durante y después de su preparación. Así, tal problema es objeto de muchos estudios y diversos grupos de investigación

han propuesto la estabilización de NPs Cu con capas de moléculas orgánicas, materiales semiconductores, y metales, por dar un ejemplo [62].

Actualmente las NPs Cu son utilizadas en diversas áreas de la industria. Entre los principales usos que tienen estas se pueden nombrar los siguientes ejemplos [63]:

- Como agentes antibacteriales en textiles, plásticos y recubrimientos.
- Suplementos dietéticos de cobre con características de distribución eficiente.
- Fabricación de metales y aleaciones de alta resistencia.
- Blindaje contra la Interferencia electromagnética (EMI).
- Fabricación de disipadores de calor y materiales con alta conductividad térmica.
- Catalizador eficiente de diversas reacciones químicas y para la síntesis de metanol y glicoles.
- Fabricación de tintas conductoras diseñadas para reemplazar a los metales nobles de alto costo usados en la industria de la impresión electrónica.
- Recubrimiento conductor de metales y materiales no ferrosos.
- Aditivo lubricante nanometálico.

VI.4.1 Síntesis y caracterización

Las NPs Cu pueden ser fabricadas usando numerosos métodos, como por ejemplo la síntesis por micela inversa [64], método de poliol [65], precipitación simple a partir de soluciones acuosas y no acuosas de sales de cobre [66] (normalmente con un reductor como ácido ascórbico o NaBH_4), descomposición térmica de complejos de cobre [67], ablación laser [68], síntesis asistida por microondas [69], síntesis asistida por ultrasonido [70] y la deposición electroquímica [71]. Este último método es considerado por muchos como uno de los más adecuados y sencillos. En él se usa una solución acuosa de sulfato de cobre u otra sal, y aditivos específicos como por la PVP para prevenir la agregación. En la figura 18 se pueden apreciar los estadíos por los que pasan los iones Cu^{2+} antes de reducirse completamente y formar NPs.

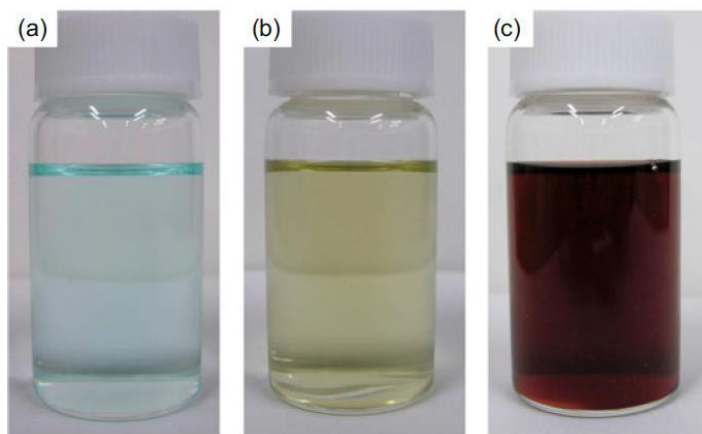


Figura 18. Fases de la reducción de una solución de Cu^{2+} (a), primero a Cu^{1+} (b) y luego a Cu metálico nanoparticulado (c) [72]

La caracterización de NPs Cu se realiza normalmente por DRX y espectroscopia UV-Vis. La caracterización morfológica se lleva a cabo MEB y MET. Los espectros UV-Vis de estas NPs presentan una banda de RPS a aproximadamente 580 nm (dependiendo del medio y de la forma de las NPs (Fig. 19).

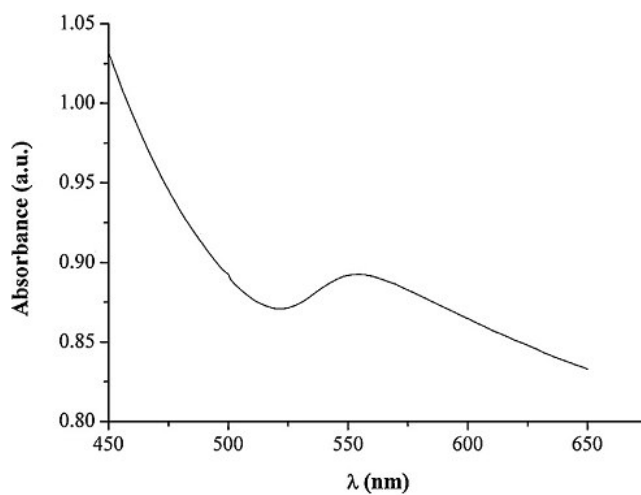


Figura 19. Espectro UV-vis típico de NPs Cu. Se observa la banda de RPS a aproximadamente 580 nm [73]

Los difractogramas de cobre nanoparticulado (Fig. 20) son muy parecidos a cualquier espectro de polvo de cobre (Fig. 21), solo que por lo regular presentan

difracciones más anchas. Estos picos se presentan a valores de 2θ de aproximadamente $43,6^\circ$; $50,8^\circ$ y $74,4^\circ$.

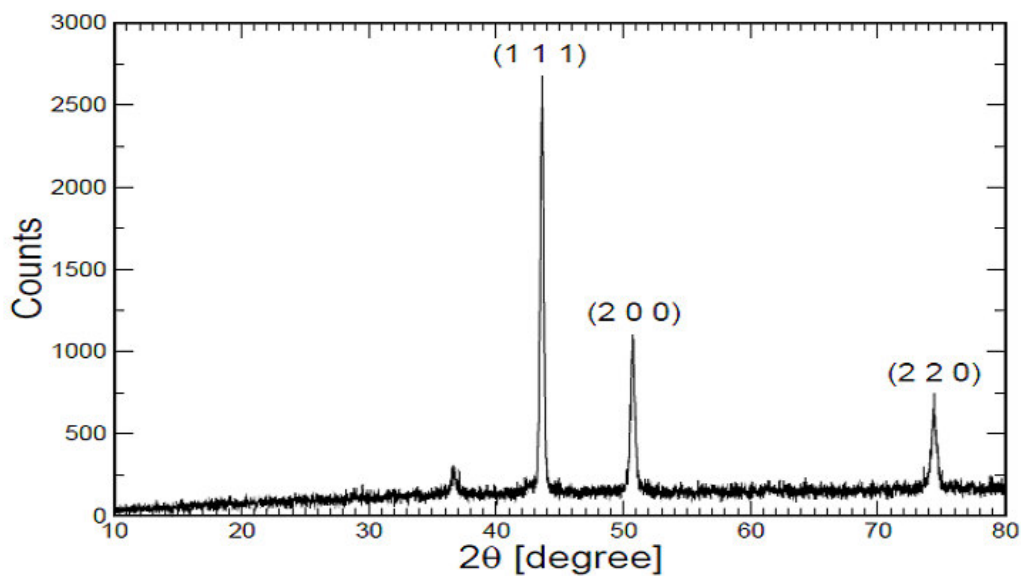


Figura 20. Difractograma de NPs Cu con sistema FCC. Se muestran los índices de Miller de las tres difracciones más intensas [68]

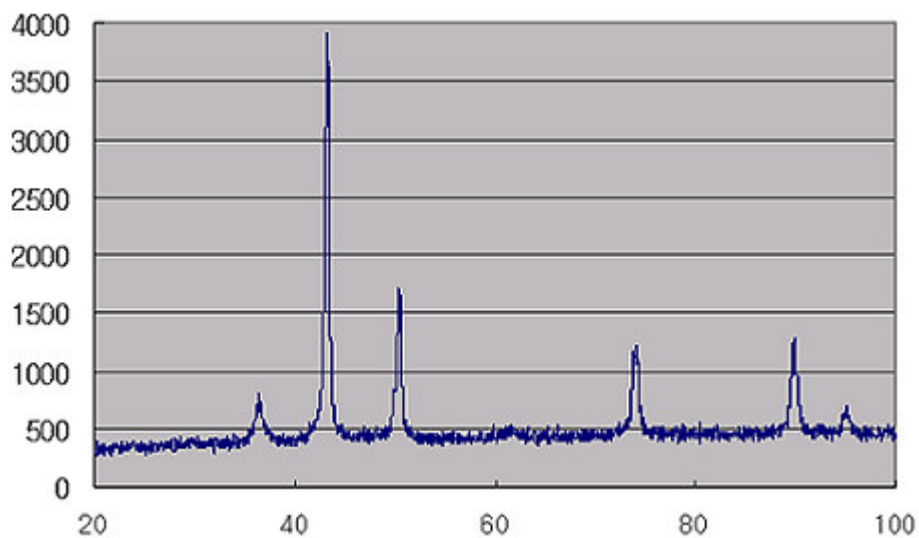


Figura 21. Difractograma simulado del estándar JCPDS, copper file No. 04–0836, de una muestra de polvo de cobre [74]

Las imágenes MEB y MET (fig. 22) sirven para estudiar la Morfología y la distribución de tamaños de las NPs.

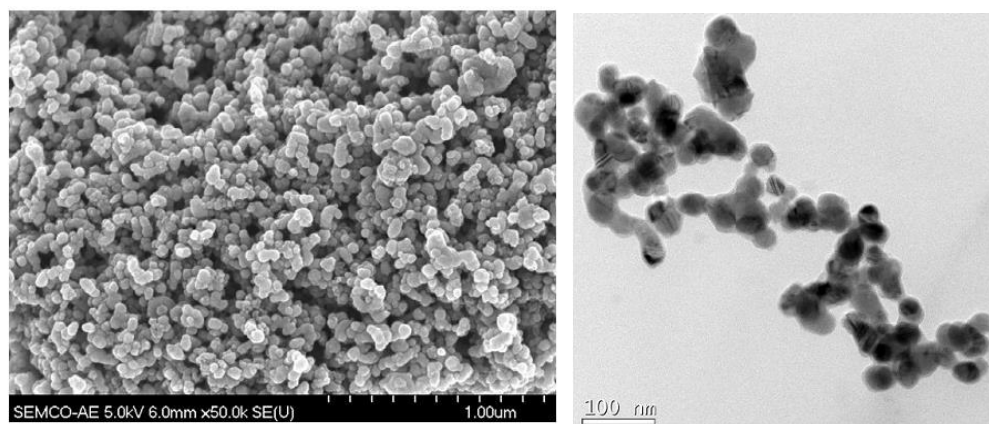


Figura 22. Imágenes MEB (izquierda) y MET (derecha) de una muestra de NPs Cu esféricas [75]

VI.5 Nanopartículas de plata

Desde la antigüedad la plata ha sido utilizada medicamente por sus efectos antibacterianos. Cuando la plata se encuentra a escala nanométrica tales características bactericidas aumentan considerablemente y se puede observar además la aparición de nuevas e interesantes propiedades ópticas, térmicas, eléctricas, magnéticas y químicas [76]. Estas propiedades hacen que las NPs Ag tengan un alto potencial de aplicación en diversas áreas tecnológicas, sin embargo, en nuestro país actualmente los trabajos de investigación que se vienen desarrollando aún están enfocados principalmente en aprovechar sus propiedades bactericidas. El efecto bactericida de las NPs Ag se basa en el hecho de que el aumento de la relación área/volumen del metal en tamaño nanométrico también aumenta la capacidad de anclaje y el efecto oligodinámico que tiene sobre los agentes microbianos. La explicación más difundida sobre la actividad bactericida de las NPs Ag sostiene que estas se anclan a la pared celular de las bacterias para luego penetrarlas y causar cambios estructurales en la membrana celular, tales como cambios en la permeabilidad de la misma, mediante la defosforilación de sustratos peptídicos clave en residuos de tirosina, lo cual deviene en la muerte

del organismo [77][78]. Algunos estudios sostienen además que estas NPs pueden actuar además como agentes antivirales [79].

Entre las NPs de metales nobles, las de plata actualmente tienen una gran demanda por su aplicación en la industria de la electrónica [80], catálisis [81], en recubrimientos [82] y como aditivos para la elaboración de productos con características bactericidas [83] (plásticos, textiles, jabones, lavadoras, hidrogeles etc). Sus propiedades ópticas también las hacen ideales para su aplicación en la ERSM [84]. También son usadas como sensores moleculares [85], biológicos [86] y en el transporte eficiente de fármacos [87]. Una aplicación cada vez más común es el uso de NPs Ag en la fabricación de materiales textiles con propiedades bactericidas, recubrimientos antimicrobianos, teclados antibacterianos, apósitos para heridas, y dispositivos biomédicos que ahora contienen NPs Ag que liberan continuamente un bajo nivel de iones de plata para proporcionar protección contra diversas bacterias. En la figura 23 se muestra la diferencia entre la apariencia de una solución de nitrato de plata y una suspensión coloidal acuosa de NPs Ag.

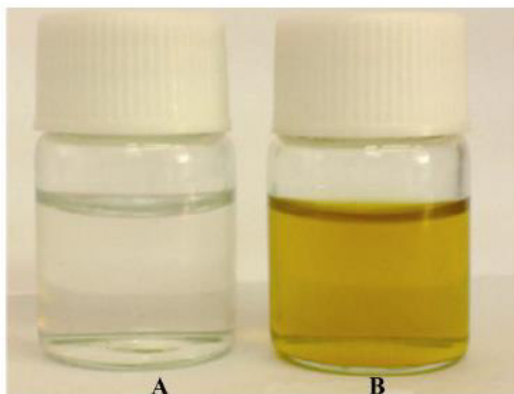


Figura 23. Solución precursora de nitrato de plata (izquierda) y solución coloidal NPs Ag (derecha) [88]

VI.5.1 Síntesis y caracterización

La síntesis de NPs Ag puede llevarse a cabo por diversos métodos, tanto físicos como químicos. Entre los métodos sintéticos más importantes se encuentran la ablación laser [89], síntesis sonoquímica [90], síntesis fotoquímica [91], síntesis

radiolítica gamma [92], síntesis asistida por microondas [93], electrosíntesis [94], síntesis por microemulsión [95], método solvotermal [96], síntesis en matriz polimérica [97] (A veces denominada síntesis por plantilla o template synthesis) y la descomposición térmica [98]. Actualmente, sin embargo, hay una enorme tendencia a utilizar los llamados “métodos verdes” para la síntesis de NPs Ag. Estos métodos se basan en la utilización de extractos de plantas [99] o bacterias [100] para la síntesis de las NPs. Cuando se usan bacterias el método se denomina biosíntesis. De igual manera, existe una clara tendencia de usar agua como solvente, independientemente del método empleado.

Al igual que las NPs Cu, la caracterización de NPs Ag se realiza de manera rutinaria por DRX y espectroscopia UV-Vis, mientras que los estudios de tamaño, distribución y morfología se llevan a cabo mediante MEB y MET.

Los espectros UV-Vis de las NPs Ag presentan una banda característica de RPS a aproximadamente 420 nm (Fig. 24), cuya forma, posición e intensidad dependen de la forma, la distribución, el tamaño y el grado de agregación de las NPs.

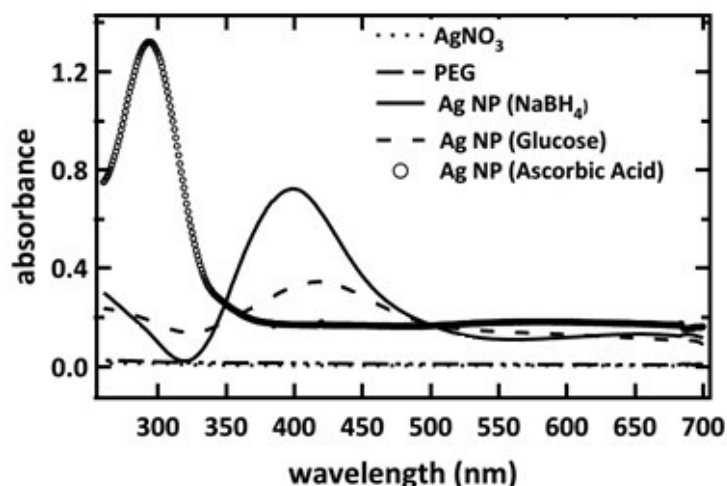


Figura 24. Espectro UV-Vis de absorción de NPs esféricas de plata obtenidas con distintos agentes reductores [101]

Los difractogramas de las NPs Ag y los polvos de plata (Fig. 25) presentan los mismos picos a aproximadamente a $2\theta = 38,45^\circ$, $44,48^\circ$, $64,69^\circ$, $77,62^\circ$ y $81,83^\circ$,

correspondientes a los planos [111], [200], [220] y [311] y [222]. Sin embargo, los picos de los difractogramas de NPs Ag suelen estar más ensanchadas.

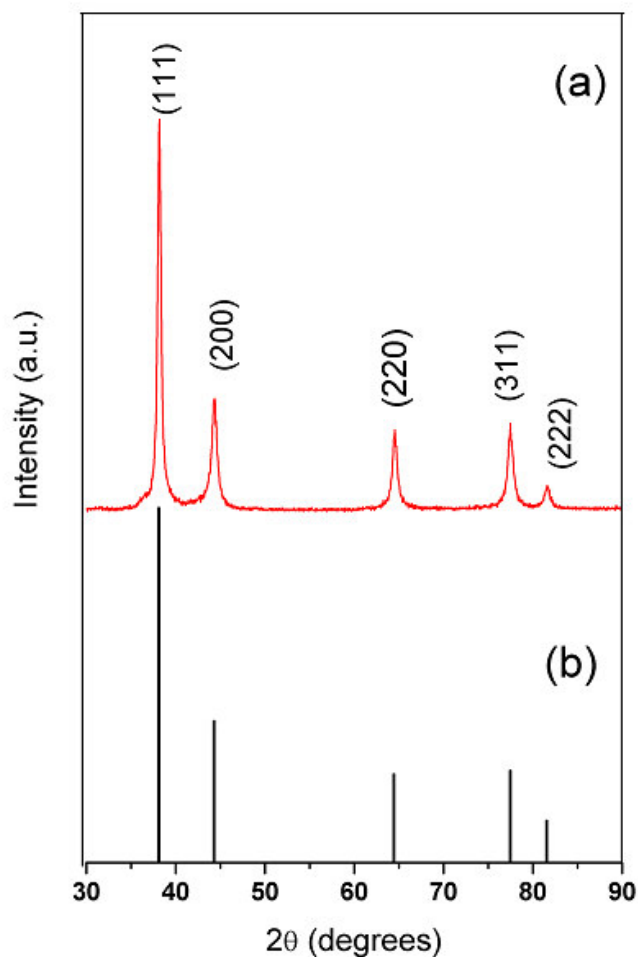


Figura 25. Comparación del patrón de difracción de una muestra de NPs Ag con sistema FCC (a) con (b) el estándar JCPDS file No. 04-0783 [102]

Las imágenes MEB y MET (Fig. 26) sirven para estudiar la Morfología y la distribución de tamaños de las NPs.

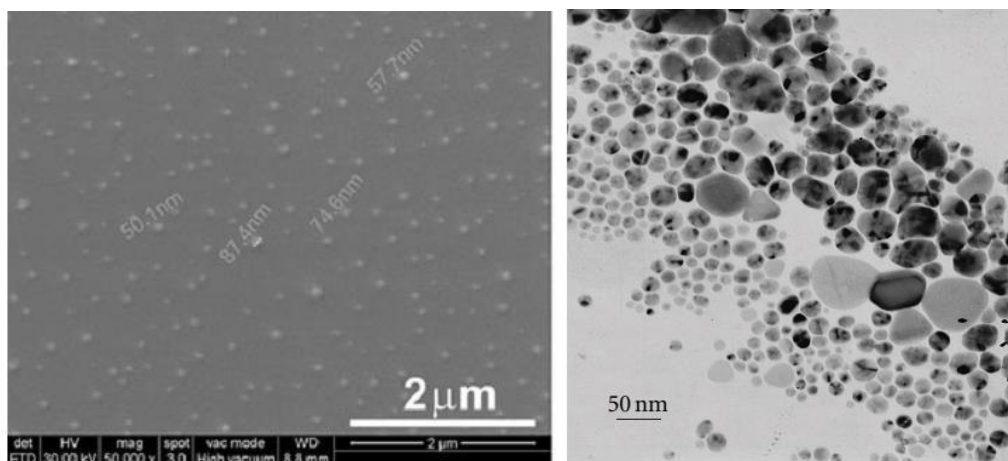


Figura 26. Imágenes MEB [103] y MET [104] de muestras de NPs Ag

VI.7 Nanopartículas bimetálicas

Las NPs bimetálicas son materiales compuestos de dos metales y cuyas propiedades pueden diferir mucho de las de sus contrapartes de un solo componente. Poseen propiedades electrónicas, magnéticas, catalíticas y de estabilidad mejoradas, con respecto a las de sus análogos de un componente, lo cual ha hecho que en los últimos años estos materiales hayan captado considerable atención de muchos grupos de investigación [105].

Las NPs bimetálicas pueden ser de tres tipos: nanoaleaciones, bicompartimentales y de tipo core@shell. Las primeras son partículas en las que los átomos de los dos metales involucrados se encuentran formando una sola estructura cristalina, de igual forma como sucede como una aleación en bulk. Las bicompartimentales son aquellas en las que las fases de ambos metales están separadas pero se encuentran formando una sola partícula. Finalmente, las NPs tipo core@shell son aquellas en las que uno de los metales se encuentra recubierto por una delgada capa del otro.

Las NPs bimetálicas en general, presentan propiedades que pueden cambiar considerablemente variando sus constituyentes, la composición porcentual de los mismos o la forma de la partícula, a diferencia de lo que sucede con las NPs de un solo metal, en las que un cambio en su forma no afecta de manera crítica sus

propiedades. Entre las aplicaciones que tienen estos materiales están la mejora de la estabilidad química de coloides, mejora de las propiedades de luminiscencia, biosensores, transporte de fármacos, catálisis, aplicaciones en optoelectrónica etc.

VI.7.1 Nanopartículas core@shell

Las NPs tipo core@shell, constituyen una clase especial de nanocompositos. Consisten en partículas concéntricas en las que las partículas de un material están cubiertas por una capa delgada de otro material, mediante procedimientos especializados. Son materiales altamente funcionales con propiedades que pueden ser direccionadas y que son bastante diferentes y/o mejores, con respecto a las del núcleo o las de la capa externa. Las propiedades de estas NPs pueden ser modificadas de forma crítica, cambiando los materiales que las constituyen, la proporción entre el core y la capa externa (composición) o la forma de las mismas [106].

Las NPs core@shell pueden ser sintetizadas usando prácticamente cualquier material, como semiconductores, metales o aislantes. En ese sentido, pueden ser sintetizadas en una variedad de combinaciones como dieléctrico-metal, dieléctrico-semiconductor, dieléctrico-dieléctrico, semiconductor-metal, metal-metal, semiconductor-semiconductor, metal-dieléctrico, etc. En el presente trabajo solo se tratarán las NPs metal@metal y en específico las NPs Cu@Ag [105].

Entre las aplicaciones que se le dan a este tipo de nanomateriales están su uso como marcadores fluorescentes para diagnósticos, su uso en catálisis, inhibición de la fotodegradación, mejoramiento de la fotoluminiscencia, creación de cristales fotónicos, preparación de bioconjugados, estabilidad coloidal de NPs, etc.

VI.7.1.1 Síntesis de nanopartículas metal@metal

Las NPs metal@metal pueden ser sintetizadas por diversos métodos, los cuales se basan generalmente en la formación de núcleos que luego sirven como sustratos o catalizadores para el crecimiento o deposición de la capa externa. Entre los principales métodos que se usan actualmente están: la deposición en

fase vapor, la síntesis electroquímica (deposición electrolítica), la reducción química y el método “electroless plating”, siendo este último uno de los más promisorios para la síntesis de las NPs núcleo@capa, por su simplicidad y eficiencia.

VI.7.1.2 Recubrimiento no electrolítico

El recubrimiento no electrolítico o “Electroless plating”, es un término acuñado por Brenner y Ridell [107] en 1946, para describir la reducción espontánea de iones, formando partículas y films en ausencia de una fuente externa de corriente eléctrica. Este método ha atraído mucho interés debido a su simplicidad, eficacia, bajo costo, alto rendimiento y a que no se necesita equipos elaborados para llevarse a cabo. Es aplicable a un amplio rango de combinaciones metal/sustrato, incluyendo las combinaciones metal/metal, metal/semiconductor y metal/aislante. Esto es particularmente útil cuando se trata de que el metal se deposite en regiones electrónicamente aisladas del sustrato, tal como sucede en la placa de un circuito, por ejemplo.

En la literatura se usa comúnmente el término “electroless plating” para describir indistintamente tres mecanismos de recubrimiento fundamentalmente diferentes. Tales mecanismos incluyen los procesos autocatalíticos, catalizados por el sustrato y de desplazamiento galvánico (inmersión). Los tres mecanismos se describen a continuación:

a) Los baños de deposición autocatalítica son comúnmente empleados en la fabricación de dispositivos electrónicos y por lo general contienen una sal metálica, un ajustador de pH, un agente complejante, un agente reductor y varios aditivos más. Una vez iniciado el proceso, las especies metálicas reducidas sirven para catalizar la subsecuente reducción de las sales metálicas (Fig. 27a).

b) De forma similar, los baños de la deposición catalizada por la superficie del sustrato también contienen una sal del metal y un agente reductor, pero la reducción del metal es facilitada en la superficie del sustrato y una vez que termina el recubrimiento, los iones del metal dejan de reducirse (Fig. 27b).

c) Por otro lado, el desplazamiento galvánico (denominado también como reacción de transmetalación redox en la literatura) procede de una manera totalmente distinta, ya que la deposición es llevada a cabo en ausencia de un agente reductor externo; los electrones reductores son derivados de los electrones de enlace de la superficie del sustrato (Fig. 27c). La deposición procede hasta que los iones oxidados del sustrato dejan de permear hacia la solución, a través de la capa metálica que ha sido depositada, o hasta que se forme una capa dieléctrica de óxido del sustrato que impida la transferencia de electrones.

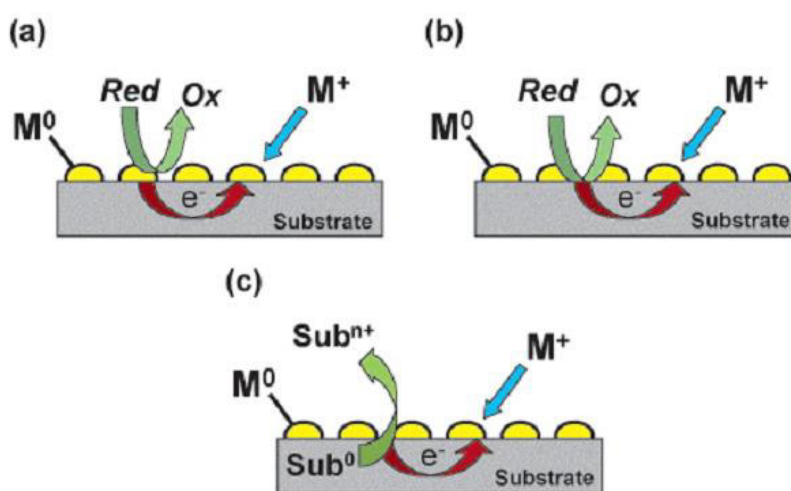
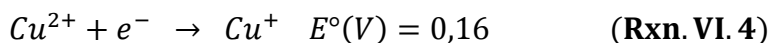
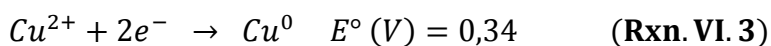
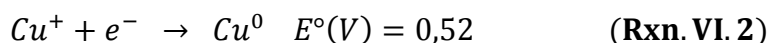
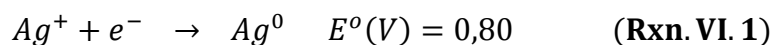


Figura 27. Proceso de la deposición no electrolítica: (a) Autocatalítico: el metal noble (b) Catalizado por el sustrato (c) Desplazamiento galvánico [108]

De los tres mecanismos mencionados, es el desplazamiento galvánico el que se usa para la síntesis de NPs core@shell. El principal requisito es que el potencial de reducción del metal que se va a depositar, sea mayor que el del que actúa como núcleo. Así, en el caso de las NPs Cu@Ag, el potencial de reducción del par $Ag^+ - Ag^0$ es mayor que para los pares $Cu^{2+} - Cu^0$, $Cu^{2+} - Cu^+$, y $Cu^+ - Cu^0$, tal y como se puede apreciar en las reacciones 1,2 3 y 4.



La ruta sintética que sigue la preparación de NPs Cu@Ag por este método se puede dividir de manera general en dos pasos:

a) El primero de ellos consiste en la preparación de las NPs que actuarán como núcleo, pudiéndose usar cualquier método para ello. En este punto es importante tomar en cuenta los agentes reductores, estabilizantes y quelantes (si es que se pretende usarlos) que se van a usar ya que estos pueden adsorberse sobre la superficie de las NPs y dificultar la deposición del segundo metal. Por lo general se emplean reducciones simples con reductores orgánicos como el ácido ascórbico o el ácido cítrico (o citrato de sodio), siendo este último usado por su característica de actuar como agente multifuncional (reductor, estabilizante, quelante, etc.) y por su facilidad de remoción en comparación con otros compuestos usados como el CTAB (bromuro de hexadeciltrimetilamonio), el hidrato de hidracina ($N_2H_4 \cdot H_2O$), $NaBH_4$, EDTA y PVP. Cabe notar que también se ha reportado que el ácido cítrico puede suprimir la precipitación de hidróxido de cobre en la reacción de desplazamiento de Cu-Ag [38].

b) El segundo paso consiste en llevar a cabo la reacción de desplazamiento galvánico. Este paso aunque es un proceso espontáneo requiere del control de ciertos parámetros como la temperatura, la tasa de desplazamiento o la activación de la superficie del metal que actúa como reductor. En cuanto a la temperatura, lo más común es que la reacción se lleve a cabo a temperatura ambiente o a 40°C, aunque algunos autores han reportado reacciones de recubrimiento llevadas a cabo a 60°C o 70°C. La tasa de desplazamiento tiene un papel bastante relevante en este tipo de reacciones y se suelen usar amoníaco (complejos amino) o EDTA para ello, siendo el primero el más usado por la mayoría de autores. En tales

casos el pH es generalmente ajustado a 11. Finalmente, la activación de la superficie del metal reductor se usa para asegurar una deposición más eficiente y compuestos como el amoníaco cumplen este rol. Al respecto, autores como Xu [109] afirman que aunque el amoníaco puede controlar la tasa de desplazamiento, los complejos amino de cobre pueden adsorberse preferencialmente sobre la superficie de las NPs Cu, dificultando la deposición de la plata y dando lugar a una estructura de cúmulos.

VI.7.1.3 Nanopartículas Cu@Ag

Son NPs con un núcleo de cobre y una capa de plata. Han cobrado gran interés en los últimos años, debido a la gran variedad de aplicaciones que tienen en dispositivos electrónicos, óptica, catálisis, y en la ERSM.

La síntesis de este tipo de NPs tiene gran importancia, debido a que es posible tener las propiedades catalíticas, conductoras, bactericidas y de mejoramiento de las señales Raman de ambos metales en un rango espectral más amplio, al mismo tiempo. Por otro lado, hasta el momento han demostrado ser la manera más eficiente de estabilizar las NPs Cu contra la oxidación. Cabe notar que aunque esto último también se puede lograr mediante la síntesis de nanoaleaciones de Cu/Ag, el efecto de estabilización se considera menor por la mayor exposición del cobre. Su importancia radica también en que es posible tener las cualidades conductoras de las NPs Ag, pero a un menor costo, debido a que poseen un núcleo de cobre [110].

La síntesis de NPs Cu@Ag se realiza de manera general en dos pasos, los cuales implican en primer lugar la formación de las NPs Cu y en segundo lugar la deposición de la capa de plata. Estas NPs se pueden sintetizar por pocos métodos, tales como la deposición fase vapor, síntesis de poliol asistida vía microondas y recubrimiento no electrolítico. A continuación se describirán brevemente los métodos de deposición en fase vapor y poliol, ya que el método de recubrimiento no electrolítico aplicado a la síntesis de NPs Cu@Ag ya fue descrito.

a) La síntesis de NPs Cu@Ag por deposición en fase vapor se desarrolla en dos pasos. El primero consiste en la deposición del cobre sobre un sustrato que suele ser carbón o silicio. Luego, en un segundo paso, se deposita una capa de plata sobre las NPs Cu depositadas en el sustrato.

b) La síntesis de poliol asistida vía microondas, aunque se reporta como un método distinto de los otros dos, podría tratarse también como una variante del recubrimiento no electrolítico. Este método en una primera etapa, consiste en la síntesis de las NPs Cu mediante la reducción con un poliol (aunque también puede ser un alcohol simple) y el calentamiento por microondas. En el segundo paso se agrega una solución del precursor de plata y se irradia nuevamente la mezcla para que se produzca el recubrimiento. Así, aunque probablemente se tenga un mecanismo complejo, los efectos térmicos y no térmicos de las microondas, y el efecto reductor del poliol, es posible que el recubrimiento de las NPs Cu por desplazamiento galvánico (recubrimiento no electrolítico) tenga un papel principal en la conducción de todo el proceso, a través de un recubrimiento inicial, seguido del crecimiento de la capa de plata mediante su reducción por el alcohol.

En cuanto a la caracterización de estas NPs, como ya se mencionó en el apartado III.3.2, sus difractogramas muestran picos característicos de NPs Cu y Ag (Fig. 28) a valores de 2θ de aproximadamente $43,316^\circ$, $50,448^\circ$ y $74,124^\circ$ para los planos (1 1 1), (2 0 0) y (2 2 0) del cobre respectivamente y, en el caso de la fase de plata, a valores de $38,114^\circ$, $64,441^\circ$ y $77,395^\circ$, correspondientes a los planos (1 1 1), (2 2 0) y (3 1 1).

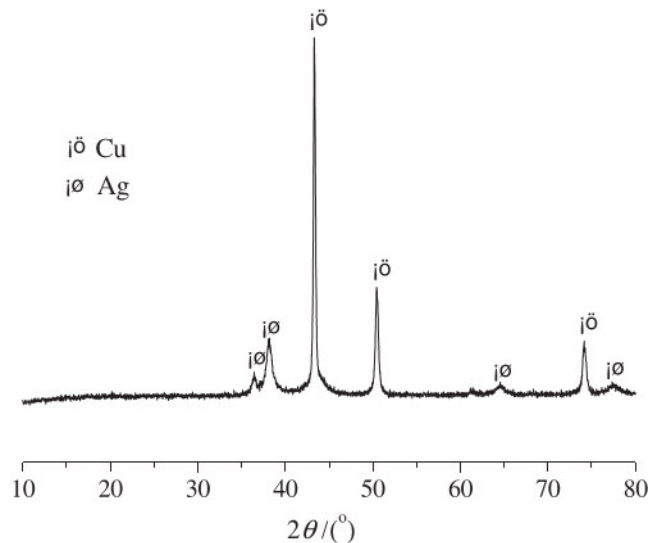


Figura 28. Difractograma típico de NPs Cu recubiertas con plata [111]

Su espectro UV-vis, por lo general, presenta una única banda situada, por lo general, entre las bandas de máxima absorción de las NPs Cu y Ag, y cuya posición exacta depende mucho (aparte del contenido de cobre o de la composición en general) del grosor de la capa de plata depositada. De esa manera, si la capa es suficientemente ancha, las NPs mostrarán un espectro UV-Vis con una única banda de NPs Ag, corrida unos pocos nanómetros hacia el rojo (Fig. 29). En este punto, cabe mencionar que el efecto de la composición en general de las NPs sobre el espectro UV es más evidente en NPs tipo aleación, en las que hay una mayor interacción de los plasmones de Ag y Cu, como se muestra en el trabajo de Rahman et al (Fig. 30).

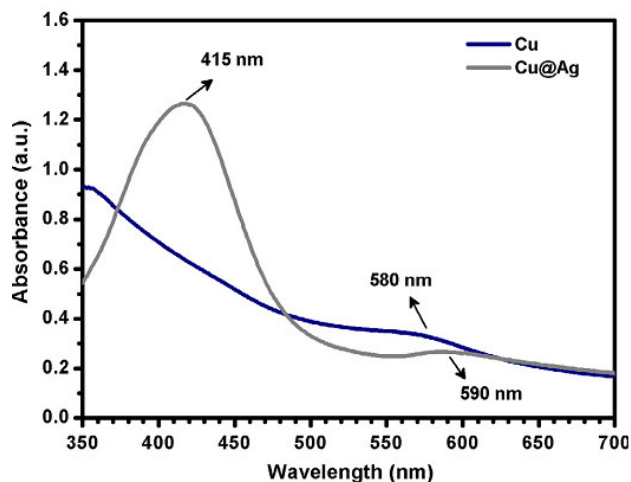


Figura 29. Espectro UV-vis de absorción de una muestra de NPs Cu@Ag en una proporción atómica de 1/8 (Ag/Cu) [112]

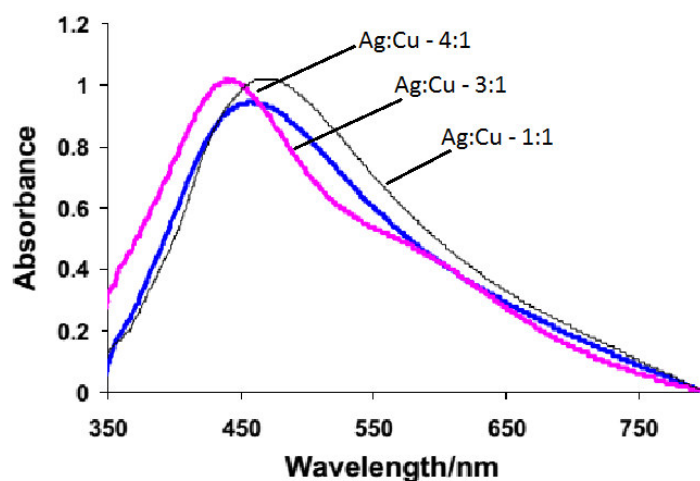


Figura 30. Espectros UV-Vis de muestras de NPs Cu-Ag tipo aleación preparadas con distintas composiciones [113]

Para el estudio morfológico se usan el MEB y el MET como ya se mencionó en los apartados III.3.5 y III.3.6. Con el MEB se puede estudiar detalladamente la morfología de las NPs obtenidas (Fig. 31), mientras que el MET aparte de usarse para estudios de distribución, permite observar la capa de plata sobre los núcleos de cobre, como lo muestran Kim et al (Fig. 32) en su trabajo sobre síntesis de NPs Cu@Ag para la fabricación de circuitos impresos.

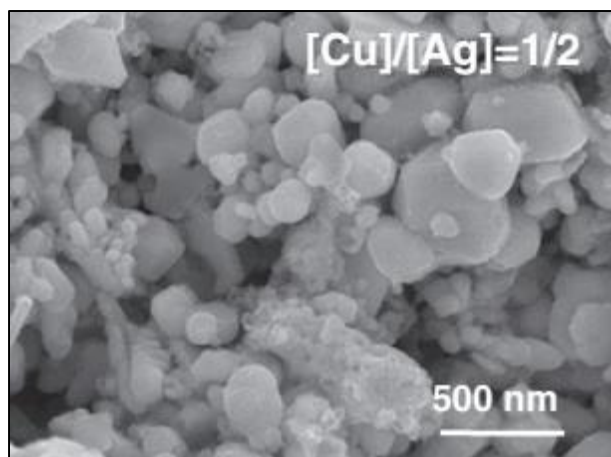


Figura 31. Imagen MEB de una muestra de NPs Cu@Ag preparada a una relación molar de $[\text{Cu}]/[\text{Ag}] = 1/2$ [114]

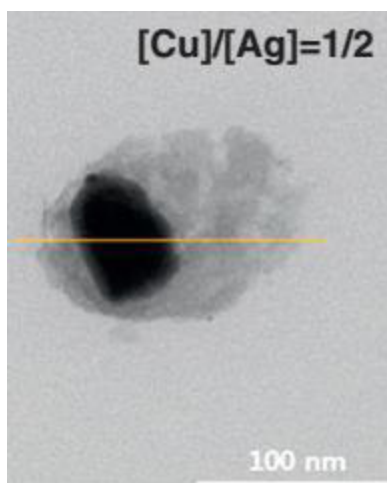


Figura 32. Imagen MET de una muestra de NPs Cu@Ag preparada a una relación molar de $[\text{Cu}]/[\text{Ag}] = 1/2$ [114]

VII.- ANTECEDENTES

VII.1 Síntesis de Nanopartículas de cobre

Los métodos sintéticos para obtener NPs Cu se han venido estudiando durante años y, actualmente, aún se siguen realizando estudios relacionados con la síntesis de las mismas, principalmente haciendo variaciones de métodos ya establecidos. Entre algunos ejemplos se pueden citar los trabajos de P. L. Nayak [115], quien realizó un estudio para determinar la eficacia de las Cu NPs sintetizadas por reducción con extracto de kion, usando distintos precursores; Shlomo Magdassi [116] y su equipo, quienes sintetizaron Cu NPs en presencia de NPs Ag como catalizadoras y usando monohidrato de hidrazina como reductor; Robert Prucek [117], quien realizó la síntesis de NPs Cu con borhidruro de sodio, en presencia de poliacrilato de sodio como agente estabilizante, y Beteley T. Meshesh y su equipo [118], quienes sintetizaron NPs Cu mediante el método poliol, usando 1-hexadecilamina como agente estabilizante.

De acuerdo a lo encontrado, se tiene que la mayoría de los trabajos realizados en la actualidad están direccionados de cierta forma hacia la química verde y se llevan a cabo en medio acuoso [119, 120, 121, 122], usando NaBH_4 [123, 124, 125, 126, 127] o KBH_4 [128] como principal agente reductor. Asimismo el Etilenglicol [129] sigue siendo también uno de los medios más usados para la síntesis de NPs Cu. Los métodos sintéticos que más destacan son la electrosíntesis [130, 74, 131, 132, 133], la síntesis asistida vía microondas [134, 135, 136, 73, 137], la descomposición térmica [138, 139] y por supuesto la ya mencionada reducción con NaBH_4 . Los métodos de reducción con extractos de plantas aún se siguen estudiando [140].

Entre las áreas de mayor interés, se encuentra la síntesis de nanocompositos de cobre. Entre los trabajos de más importancia se pueden citar los de I. Firkowska [141], quien estudio el efecto de la modificación de la superficie de nanotubos de carbono (NTCs) mediante oxidación y anclaje de sulfonato de poliestireno, en las propiedades térmicas de compositos de NPs Cu – NTCs; A. Liu et al. [142], quienes sintetizaron nanocompositos de polianilina - Cu mediante el método de

explosión eléctrica de filamentos; Chen-Yu Kao y su grupo [143], quienes sintetizaron nanocompositos de Fe – Cu mediante reducción química, con NaBH_4 , para su aplicación en la fabricación de electrodos para baterías alcalinas recargables; M. Sharifirad [144], quien con su grupo realizó la síntesis de nanocompositos de poli(4-4-diaminosulfon) con varios metales, entre ellos el cobre.

VII.2 Síntesis de Nanopartículas de plata

Al igual que con el cobre, la síntesis de NPs Ag ha sido ampliamente estudiada a lo largo de los años. Sin embargo, nuevamente igual que con las NPs Cu y con otras NPs metálicas, aun se siguen estudiando nuevas variantes de métodos ya establecidos, teniendo la gran mayoría de estos estudios la característica común de usar agua como solvente. Así, actualmente se puede decir que existe una clara tendencia hacia la química verde en la síntesis de NPs Ag y se siguen explorando variantes sintéticas en las que se cambia principalmente el agente reductor. Como ejemplos de algunos de estos trabajos se pueden mencionar los de J. Stojkovska, quien sintetizó nanocompositos de alginato con NPs Ag obtenidas mediante electrosíntesis [145]; A. Król-Gracz y su grupo, quienes obtuvieron NPs Ag a partir de suspensiones acuosas de bromuro de plata, mediante fotoreducción en presencia de hidroquinona [146]; J. Biswal y su grupo, quienes prepararon NPs Ag estabilizadas con polimetacrilato, mediante irradiación gamma, a partir de una solución de AgNO_3 con ácido metacrílico, para su aplicación en la detección de dopamina a bajas concentraciones [147]; B. Baruah, quien realizó la síntesis de NPs Ag estabilizadas por poliguanidino oxobornanos de 5-25 kDa y poliamino oxobornanos de 3-15 kDa, mediante reducción química con NaBH_4 en medio acuoso [148]; P. Van Dong y su grupo, quienes sintetizaron NPs Ag estabilizadas con PVP en medio acuoso, mediante reducción con NaBH_4 , citrato de sodio y peróxido de nitrógeno, y evaluaron su actividad bactericida frente a *Escherichia coli* [149]; I. Wani, quien con su grupo realizó la síntesis de NPs Ag en medio acuoso, mediante la reducción con NaBH_4 y citrato de sodio, en presencia de ultrasonido [150]. Asimismo se pueden encontrar más referencias de métodos como la electrosíntesis [151,152], la irradiación gamma [153, 154], la reducción

química [155], la síntesis asistida vía microondas [101, 156], la síntesis sonoquímica o ultrasónica [157, 150, 158], la síntesis hidrotermal [159], la síntesis por micela inversa [160, 161], etc.

De acuerdo a lo encontrado, se tiene que el método más usado para la síntesis de NPs Ag es la reducción simple con compuestos orgánicos (principalmente ácido ascórbico y ácido cítrico o citrato de sodio), denotando esto nuevamente la tendencia hacia la química verde, ya que este tipo de reductores son considerados de cierta forma menos contaminantes que los inorgánicos. Cabe notar también que los reductores orgánicos usados son menos fuertes que los inorgánicos y permiten tener un mayor control sobre la síntesis y la morfología de las NPs, siendo ello una posible razón de su preferencia por parte de los grupos de investigación. Entre algunos de los trabajos relacionados se tienen los de Ratyakshi y Chauhan [162], Steinigeweg y Schülcker [163], Darroudi [164] y S. L. Hsu [165].

Entre los métodos puramente “verdes” se tienen la biosíntesis y la síntesis mediante extractos de plantas. Como ejemplos del primer tipo de síntesis se pueden citar los trabajos de Malarkodi [166], C. Y. San [167] y Honary [168]. Como ejemplos de síntesis mediante extractos se tienen los trabajos de Venkata [169], Ponarulselvam [170] y Supraja [171].

VII.3 Síntesis de Nanopartículas Cu@Ag y aplicaciones

VII.3.1 Revistas científicas

El estudio de la síntesis de NPs Cu@Ag se inició ya hace varios años, teniendo dos principales motivos. El primer motivo fue encontrar una manera de estabilizar las NPs Cu frente a la oxidación - ya que estas son altamente reactivas y se oxidan rápidamente en presencia de aire, formando una capa de óxido estable [172] -, para su utilización en diversas aplicaciones, pero principalmente en la fabricación de tintas conductoras para la elaboración de circuitos impresos. El segundo motivo fue principalmente económico, ya que era posible tener NPs con la conductividad de la plata (ya que esta recubre las NPs Cu) y con más

estabilidad frente a la oxidación que las NPs Cu, pero a un menor precio, ya que estos materiales están principalmente compuestos de cobre.

Al respecto de la estabilización de NPs Cu frente a la oxidación, no solo se ha usado plata para ello sino que se ha recurrido a diversos materiales y métodos. Entre estos métodos se encuentran el recubrimiento con carbono amorfo [173] y grafeno [174]; surfactantes y polímeros [175, 176, 177], sílice [178] y recubrimientos metálicos distintos a la plata [179, 180, 181, 182].

En cuanto a las NPs core@shell y aleación, las de metales nobles son las más ampliamente estudiadas por sus interesantes propiedades ópticas, catalíticas y electrónicas únicas. En la literatura se pueden encontrar numerosos trabajos en los que se estudian diversos sistemas como los Au-Pd [183], Au-Pt [184], Ag-Pd [185], Ag-Pt [186], Ag-Cu [187] y los de Ag-Au [188], que han sido estudiados tanto en configuración de tipo core-shell, como nanoaleaciones y NPs multicapa. Por otro lado, las NPs Cu@Ag han atraído el interés de diversos grupos de investigación desde hace algunos años, ya no solo por su aplicación en la fabricación de tintas conductoras, sino principalmente por sus propiedades ópticas, catalíticas. Esto último principalmente porque es posible tener las propiedades ópticas de mejoramiento de las señales Raman en un rango espectral más amplio, y las propiedades conductoras, catalíticas e incluso bactericidas de la plata y el cobre al mismo tiempo en un solo material.

Actualmente, la síntesis de NPs Cu@Ag se basa principalmente en el uso de tres técnicas y sus variantes: Deposición química en fase vapor, recubrimiento no electrolítico y síntesis de poliol asistida vía microondas, aunque esta última incluye necesariamente en su mecanismo el desplazamiento galvánico (recubrimiento no electrolítico), si bien en la literatura se reporta como un método aparte. Estas tres rutas sintéticas se llevan a cabo en dos pasos, los cuales incluyen la síntesis de las NPs Cu que actuarán como núcleos y luego el recubrimiento de las mismas con plata, a diferencia de lo que ocurre con las NPs Cu-Ag tipo aleación [189] o Ag@Cu [190], donde es posible llevar a cabo la síntesis en un solo paso.

En la literatura se pueden encontrar diversos trabajos relacionados con la síntesis de estas NPs por los métodos mencionados, siendo el recubrimiento no electrolítico el más usado para ello. Así por ejemplo, se pueden mencionar los trabajos de Byeon et al [191], quienes sintetizaron NPs Cu@Ag vaporizando alambres de cobre (por el método de formación de aerosol por chispa) y conduciendo el vapor hacia una solución de nitrato de plata en una mezcla de agua-etilenglicol (1:5), agitada mediante pulsos ultrasónicos; Tsai [112] quien evaluó la estabilidad térmica de NPs Cu@Ag obtenidas mediante una síntesis en dos pasos, que incluyó la reducción del precursor cobre con NaBH_4 en un primer paso y el recubrimiento con plata por desplazamiento galvánico en el segundo paso. Como ejemplos de síntesis por deposición química en fase vapor se pueden mencionar los trabajos de Cazayous [187] y Langlois [192]. En el caso del uso de la síntesis de poliol asistida vía microondas se pueden mencionar los trabajos de Tsuji [193] y Chen [39].

Dado que la síntesis por recubrimiento no electrolítico se realiza en dos pasos, se han utilizado diversos métodos para la síntesis de NPs Cu en el primer paso. En la mayoría de ellos se forman complejos amino de plata y cobre para controlar la tasa de deposición de la plata [111,194, 46]. Las NPs Cu son obtenidas normalmente por reducción de los complejos con ácido ascórbico o NaBH_4 , aunque estos reductores también son los más usados en el caso de que no se usen complejos amino. En cuanto al uso de otras técnicas para la obtención de las NPs Cu, destacan los trabajos de Giorgetti y su grupo [195], quienes obtuvieron NPs Cu@Ag mediante la ablación láser de láminas de cobre inmersas en soluciones de AgNO_3 y AgNO_2 ; Mancier [196] quien obtuvo las NPs Cu mediante síntesis sonoelectroquímica para luego recubrirlas por desplazamiento galvánico. También se pueden citar los trabajos de Zhou [109], Peng [38] y Muzikansky[197].

En cuanto a las aplicaciones que se les da a estas NPs, como ya se mencionó, las más comunes son la preparación de tintas conductoras para fabricar circuitos impresos [114] y la mejora de la señal Raman [187]. Por ello, al respecto de otro tipo de aplicaciones destacan los trabajos de Zhang, quien propuso su utilización

en la detección colorimétrica de aniones inorgánicos [34], recientemente, Gao y su grupo, quienes han propuesto su utilización en la detección electroquímica ultrasensible del antígeno carcinoembrionario [194].

Finalmente cabe notar que son muy pocos los trabajos en los que se evalúe la actividad bactericida de estas NPs [198] y que al igual que con las NPs Cu y Ag, el solvente más usado para su síntesis es el agua.

VII.3.2 Vigilancia tecnológica (VT) de Patentes

En el campo de las patentes son muy pocos los trabajos relacionados directamente o que contemplen de algún modo la utilización de NPs núcleo@capa y nanoaleaciones de Cu-Ag. En todos los casos se considera el desarrollo de tintas conductoras para su impresión en circuitos electrónicos, como la principal aplicación que se le puede dar a estos materiales, mientras que las propiedades bactericidas de los mismos no son explotadas. Entre las patentes más importantes con respecto a este tema se pueden mencionar: la patente US20070212562A1 [199], que trata del desarrollo de NPs Cu recubiertas con plata, paladio, platino u oro, basándose en el mayor potencial de reducción de estos en comparación con el cobre, y donde como agente reductor se utiliza una amina primaria; la patente US20110183128A1 [200], que propone un método general para la preparación de NPs bimetálicas núcleo-capa estabilizadas con carboxilatos y donde se contempla la configuración Cu@Ag como una de las alternativas más adecuadas para la producción de tintas conductoras; la patente US8130438B2 [201], que versa sobre el desarrollo de NPs bimetálicas resistentes a la oxidación (Cu@Ag entre ellas), para su aplicación en la preparación de tintas conductoras; la patente EP2114114A1 [202], que propone un método para la deposición directa sobre un sustrato determinado, de nanoaleaciones (Cu-Ag entre otras) y mezclas de NPs que luego de un tratamiento térmico (menor a 140°C) formaran aleaciones, a partir de las soluciones coloidales de las mismas; la patente EP2130627A1 [203], que propone un método de síntesis fotoquímica de NPs bimetálicas (Cu@Ag entre ellas); y la patente US20120315495A1 [204], que trata de un método para la

fabricación de tintas conductoras hechas de NPs metálicas (Nanoaleaciones de Cu-Ag, por ejemplo) y clústeres metálicos.

VII.3.3 VT Tecnológica y empresarial

En el ámbito empresarial, actualmente hay empresas que comercializan principalmente nanoaleaciones cobre-plata, por la mayor facilidad que supone su fabricación en comparación con las NPs Cu@Ag. Se pueden citar ejemplos como los de la empresa American Elements, [205] que vende nanopolvo de la aleación Cu-Ag, con grados de pureza que van del 99% al 99,999%, con un tamaño promedio menor a 100nm y con una composición de 97,5% plata y 2,5% cobre. De igual forma la empresa Sigma Aldrich [206] comercializa nanoaleaciones Cu-Ag en polvo con características similares pero con una pureza de 96-98%, y la empresa mkNANO [207] vende Nanoaleaciones Cu-Ag con un tamaño promedio de 90nm y con una pureza del 99,9%. Cabe mencionar también los casos de las empresas Nanoshell [208] y nGimat [209], que ofrecen también nanoaleaciones Cu-Ag. Por otro lado empresas como Industrial Powder [210], Potters [211] y Ferro [212] venden polvo de cobre recubierto con plata, con un micraje que va desde 2µm hasta 60µm y en forma de hojuelas y partículas.

Aunque no se han encontrado referencias relacionadas a la comercialización de NPs Cu@Ag, cabe mencionar que actualmente la empresa Suzhou Canfuo Nanotechnology Co. LTD [213] se encuentra desarrollando nanopolvos de cobre recubierto con plata.

VIII. SECCION EXPERIMENTAL

VIII.1. Descripción del material y el equipo utilizado

VIII.1.1 Reactivos y cepas bacterianas

Se usaron acetatos de plata y cobre como precursores metálicos carboxílicos de las nanopartículas; ácido ascórbico y ácido cítrico monohidratado como agentes reductor y antioxidante respectivamente; PVP de 40kD como agente estabilizante y promotor de la reducción de los iones metálicos; etilenglicol como medio para las reacciones. Todos los reactivos utilizados fueron de grado analítico y se obtuvieron de la empresa Sigma Aldrich.

Para el estudio de la actividad bactericida de las nanopartículas se usaron dos cepas bacterianas de American Type Culture Collection (ATCC-EEUU): *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Los componentes del medio nutritivo fueron Brain Heart Infusion (BHI) y Müller Hintong. Los medios sólidos fueron suplementados con 1,5% de agar bacteriological, como agente solidificante. Se utilizó agua desionizada de grado Milli-Q para la preparación de las soluciones.

VIII.1.2 Equipos:

VIII.1.2.1 Equipos de caracterización

- Espectrofotómetro Genesys 10s UV-Vis, con lámpara de xenón, doble haz y fotodiodos duales de silicio como detectores.
- Espectrómetro de rayos X Amptek X-123, equipado con un detector derivado de silicio o SDD (silicon drift detector)
- Microscopio electrónico de barrido FEI Philips XL30 sFEG (2002) y un FEI Quanta 200, con detectores EDS, SE (Secondary electron detector o detector de electrones secundarios) y BES (Back-scattered electron detector o detector de electrones retrodispersados).

- Microscopio Electrónico de Transmisión (MET) FEI Philips Tecnai 20 (2002) y un Philips EM400.
- Difractómetro de Rayos X para polvo cristalino, BRUKER D8-FOCUS con fuente de Cu (K $\alpha=1,54056 \text{ \AA}$) y monocromador secundario de grafito.
- Espectrofotómetro infrarrojo NICOLET IMPACT 410, con transformada de Fourier y de doble haz.
- Espectrofotómetro DLS Brookhaven 90plus, con un rango de análisis de 0,3nm - 6 μm , laser de 35mW y ángulos de dispersión de 15° y 90°.

VIII.1.2.2 Equipos de auxiliares

- Equipo de ultrasonido modelo GE 600, de 600 watts y de 20 kHz de frecuencia (Fig. 33)



Figura 33. Equipo de ultrasonido (US)

VIII.1.2.3 Equipos de vidrio

Se usó una línea Schlenk (Fig. 34) de tres llaves de paso de doble vía, diseñada para trabajos a baja y alta presión. La línea fue elaborada usando vidrio de borosilicato o de calidad 3.3, con un grosor de 1,5-1,8mm. En el caso de los balones, el cuello esmerilado principal fue elaborado con un grosor de 1,8-2,0mm, mientras que en los cuellos secundarios el grosor fue de 1,5-1,8mm. El listado de las partes que comprenden la línea Schlenk utilizada se muestra en el anexo 1.



Figura 34. Diseño de la línea Schlenk

VIII.2 Metodología

El trabajo se dividió en 3 partes:

En la primera parte se realizó la síntesis de las NPs Cu@Ag utilizando un procedimiento de dos pasos. En el primer paso se sintetizaron NPs Cu mediante la reducción inicial de Cu^{2+} a Cu^+ con ácido ascórbico y la inmediata reducción a Cu^0 con ácido cítrico. El segundo paso consistió en la aplicación del método “electroless plating” para la deposición de la plata sobre la superficie de las nanopartículas de cobre. También se sintetizaron NPs de Cu y Ag con fines de comparación. Las NPs obtenidas se caracterizaron por las técnicas correspondientes.

El segundo componente consistió en la evaluación microbiológica de las NPs para la determinación de su actividad antibacterial. Se desarrolló mediante la aplicación de dos los tipos de nanopartículas de Cu@Ag preparadas, sobre discos de papel filtro de acuerdo al método Kyrbi-Bauer modificado para enfrentarlas a las cepas bacterianas estándar mencionadas en el apartado VIII.1.1.

Finalmente en el tercer componente comprendió el análisis los resultados de los estudios de caracterización realizados a los productos del primer y segundo componente. Las técnicas empleadas fueron: difracción de rayos x de polvo cristalino (DRX), espectrometría de fluorescencia de rayos x (FRX), espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-Vis) y espectroscopia infrarroja (FT-IR). Las nanopartículas se estudiaron además mediante microscopia electrónica de barrido (MEB) y transmisión (MET), y espectroscopia de dispersión dinámica de luz (DLS).

La síntesis de nanopartículas se llevó a cabo mediante técnicas Schlenk, en un sistema con atmosfera inerte (N_2) y diseñado para llevar a cabo adiciones en las mismas condiciones (Fig. 35).



Figura 35. Sistema diseñado para la síntesis de NPs

Todas las reacciones se realizaron con agitación constante y usando etilenglicol como medio reactante. El etilenglicol usado fue burbujeado con N_2 para eliminar la presencia de O_2 en todos los procesos.

VIII.3. Síntesis de NPs Cu@Ag

Se sintetizaron NPs de cobre, plata y Cu@Ag usando precursores carboxílicos de cobre y plata. Las nanopartículas de cobre se utilizaron como sustrato para la

deposición de la plata y la formación de las NPs Cu@Ag. Las nanopartículas de plata y cobre, por otro lado, se utilizaron con fines de comparación con los demás ensayos.

Se analizaron diversos factores sintéticos (relaciones molares entre el intermediario: agente reductor, etilenglicol: ácido cítrico, intermediario: PVP, temperatura, tiempo de reacción, concentración, etc.) que influyen en la obtención de las NPs.

VIII.3.1 Síntesis de NPs Cu(0)

En un balón Schlenk de 250mL, acondicionado a un sistema en flujo de N₂ y con agitación magnética (condiciones que se mantuvieron durante toda la síntesis), se colocaron 1,0256 mmol de acetato de cobre ($\text{Cu}(\text{OAc})_2$) disueltos en 20mL de EG. Luego, se adicionó una solución de 9,5574 mmol de PVP en 30mL de EG y se sometió la mezcla a calentamiento a una temperatura de 70°C, temperatura que se mantuvo durante todo el procedimiento. La mezcla se dejó en calentamiento durante media hora para lograr una adecuada estabilización de la temperatura (Fig. 36).



Figura 36. Solución de $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ en EG a 70°C

Luego de que la temperatura se estabilizara se adicionó una solución de 2,6806 mmol de Ácido Ascórbico (AA) en 25mL de EG, lo que produjo un cambio de coloración en la solución, de turquesa a turquesa blanquecino y luego a amarillo intenso (Fig. 37). Esta transición dura alrededor de 5 minutos.

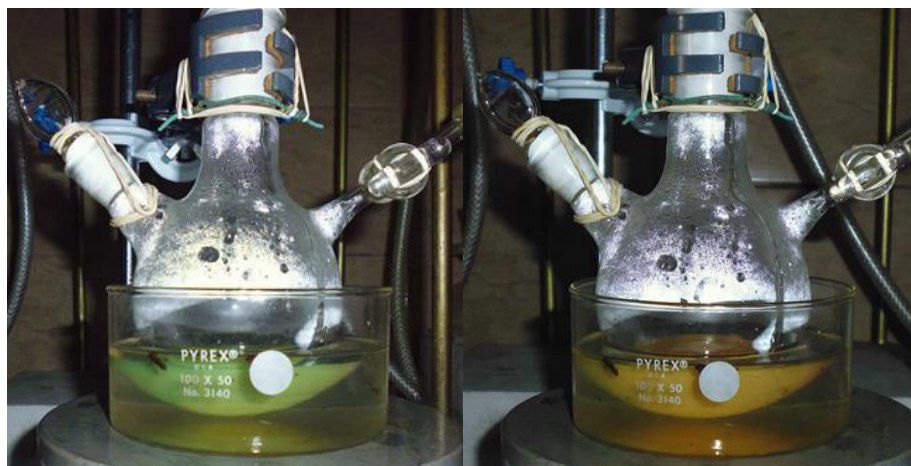


Figura 37. Transición del Cu^{2+} a Cu^+

La coloración amarilla es estable solo algunos minutos, para luego tornarse de color negro por la formación de CuO . En el momento de la formación del intermedio amarillo se agregaron 1,6365 mmol de Ácido Cítrico Monohidratado (AC) disueltos en 20mL de EG, produciéndose un paulatino cambio de color, de amarillo a marrón rojizo, evidenciándose así la formación de cobre nanoparticulado (Fig. 38). El sistema se mantuvo en reacción por un periodo de 1 hora para completar la reducción. No se observó ningún cambio adicional.



Figura 38. Nanopartículas de cobre

Las nanopartículas se analizaron inmediatamente por espectroscopia UV-Vis. Luego se centrifugaron a 10000 rpm por 1h y se redispersaron en acetona para ser analizadas por DRX, FRX, MEB y MET.

VIII.3.2. Síntesis de NPs Ag(0)

En un balón Schlenk de 250mL, acondicionado a un sistema en flujo de N_2 y con agitación magnética (condiciones que se mantuvieron durante toda la síntesis), se colocaron 0,6011 mmol de acetato de plata ($AgOAc$) y 30mL de EG. Se sometió la mezcla a calentamiento a una temperatura de $56^\circ C$, hasta disolución completa de la sal de plata (Fig. 39). A partir de este punto se mantuvo la temperatura de reacción a $56^\circ C$ durante toda la operación.



Figura 39. Disolución del AgOAc

Disuelta la sal de plata se adicionaron 9,0103 mmol de PVP en 15mL de EG. El sistema se dejó en reacción por 1h para promover la interacción del PVP con la plata, observándose a la media hora, la aparición de una tenue coloración amarilla (Fig. 40).



Figura 40. Ligera coloración amarilla en la mezcla Ag-PVP

Terminado el tiempo de reacción, se adicionó una solución de 0,3759 mmol de AA en 15mL de EG, lo que produjo un cambio de coloración en la solución, de amarillo tenue a una coloración amarilla verdusca por la formación de nanopartículas de plata (Fig. 41).



Figura 41. Formación de NPs Ag en presencia del ácido ascórbico

Luego de media hora de reacción con el AA, se agregaron 1,4290 mmol de AC disueltos en 15mL de EG. La mezcla se mantuvo en reacción por 1h, observándose una ligera intensificación del color verde en la misma, terminando de un color verde olivo (Fig. 42).



Figura 42. Nanopartículas de plata obtenidas en presencia de ácido ascórbico y ácido cítrico

Las nanopartículas se analizaron inmediatamente por espectroscopia UV-Vis. Luego se centrifugaron a 10000 rpm por 1h y se redispersaron en acetona para ser analizadas por DRX y FRX.

VIII.3.3. Síntesis de Cu@Ag

En este caso se sintetizaron primero las NPs Cu para luego depositar la plata sobre su superficie mediante la técnica electroless plating. El procedimiento sintético para las NPs Cu siguió el mismo descrito en el apartado anterior solo que en la última etapa sintética de la síntesis para las NPs Cu(0), estas no fueron centrifugadas, sino que se prosiguió con una adición lenta de acetato de plata (AgOAc) disuelto en 10 mL de etilenglicol sobre la reacción anterior manteniendo al temperatura del reactor en 70°C por 4 h. Se empleó una relación 2:1 de Cu:Ag para la adición, obteniéndose una suspensión coloidal amarillo pardo, similar a las NPs Ag (Fig. 43). Se realizaron diversos ensayos variando distintos parámetros de síntesis con el fin de determinar las condiciones óptimas para el proceso.



Figura 43. NPs Cu@Ag obtenidas

Transcurrido el tiempo de reacción, la muestra se analizó inmediatamente por espectroscopía UV-Vis. Luego se centrifugó a 10000 rpm por 1h y se redispersó en acetona. La suspensión obtenida se analizó por las técnicas correspondientes.

Se analizaron también diversos factores sintéticos como las relaciones molares AA:Cu, AC:Cu, la relación de masa PVP:Cu, temperatura, tiempo de reacción y el tiempo de goteo de la solución de AgOAc durante el recubrimiento, para relación molar 2:1 de Cu:Ag.

VIII.5 Actividad Bactericida de las Cu@Ag NPs

Se evaluó el efecto bactericida de las NPs mediante ensayos en discos de papel filtro, sobre los cuales se añadieron volúmenes crecientes de las mismas. Los microorganismos ensayados fueron: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), cepas estándares, originarias de un banco de cepas plenamente identificadas. Se evaluaron dos tipos de NPs, denominados por el orden de síntesis como 3 y 4, cuya única diferencia es fue la velocidad de goteo empleada para el recubrimiento.

VIII.5.1 Prueba de difusión en disco

El ensayo se realizó en placas Petri que contenían Agar Muller-Hinton, sobre el cual se sembraron las cepas bacterianas a una densidad de 0,5 en la Escala de MacFarland. Seguidamente se colocaron 4 discos de papel filtro Whatman de 5,5 mm de diámetro sobre los 4 cuadrantes de la placa Petri. Sobre tres de los discos se colocaron volúmenes de 20, 30 y 40 μ L de NPs Cu@Ag. El cuarto se usó como blanco.

Este método estandarizado de difusión en disco esta descrito por el Laboratorio Internacional de Referencia: National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

VIII.5.2 Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)

La concentración mínima inhibitoria (CMI), en microbiología, es la concentración más baja a la que un antimicrobiano inhibe el crecimiento de un microorganismo después de su incubación [214].

Se evaluaron las nanopartículas Cu@Ag por el método de macrodilución en caldo, (NCCLS) [215, 216] enfrentándolas a las cepas Gram (-) ATCC 27853 y Gram (+) ATCC 25923. Se agregó 1 ml de las nanopartículas a un primer tubo con 1 mL de caldo BHI, para luego realizar las diluciones. Finalmente se inocularon 100 μ L de cultivo bacteriano ajustado a 0,5 en la escala Mc-Farland a cada tubo. Se incubó a 37°C por un periodo de 18-24 horas. Esta prueba se realizó por duplicado.

VIII.5.3 Determinación de la concentración mínima bactericida (CMB)

La Concentración Mínima Bactericida (CMB), es la mínima concentración de agente antimicrobiano que elimina más del 99,9% de bacterias después de un periodo de incubación de 18-24h [217]. Para este ensayo se tomaron alícuotas a partir del tubo del ensayo de CMI, las cuales fueron sembradas por duplicado en agar BHI e incubadas a 37°C por 18-24 horas.

VIII.5.4 Determinación de la cinética de muerte

Las cepas ATCC 25923 y ATCC 27853 fueron reactivadas en 5ml de caldo BHI e inoculadas en su fase logarítmica terminal, en matraces conteniendo 25ml de caldo BHI con 4,125µg/ml de concentración bactericida. Mediante espectrofotometría UV-Vis se evaluó durante 7 hrs la cinética de muerte de las cepas ATCC incubadas a 37°C, en agitación a 220 rpm durante 72 horas. A las 24, 48 y 72 horas de realizado el estudio de cinética, los cultivos fueron sembrados en agar Brain-Heart (BHI) e incubados a 37°C por 24 horas

VIII.6 Caracterización estructural

Para el seguimiento de las NPs obtenidas, se empleó la espectroscopia UV-Vis en las diferentes etapas de los procesos. La caracterización estructural de las nanopartículas se llevó a cabo mediante difracción de rayos X (DRX). Se empleó un difractómetro de Rayos X para polvo cristalino, BRUKER D8-FOCUS con fuente de Cu (K α =1,54056 Å) y monocromador secundario de grafito, a través de la técnica de Bragg-Brentano. Las mediciones fueron realizadas considerando un paso de 0,04°/4s para 2 θ , en el rango de 10-80°.

Para el análisis morfológico se empleó la MEB mediante un equipo FEI Philips XL30 sFEG (2002) ubicado en y un FEI Quanta 200. Así mismo se emplearon un Microscopio Electrónico de Transmisión FEI Philips Tecnai 20 (2002) y un Philips EM400, para la determinación de la microestructura cristalina tanto en el modo Imagen como en el modo de Difracción de Electrones de Área Selecta (DEAS). Todos los análisis de microscopia se llevaron a cabo en el laboratorio Cavendish

del grupo de magnetismo en películas delgadas, de la universidad de Cambridge. Adicionalmente se evaluó el grado de aglomeración de las NPs usando un Espectrofotómetro DLS Brookhaven 90plus.

Para la determinación de composiciones atómicas, con pesos atómicos superior a 11, se empleó un espectrómetro de FRX ensamblado, el cual consta de un detector XR-1000 CR N°2214, un analizador multicanal AMPTECK 8000 y tubo de rayos X AMPTECK E3T Lab. Version W/ controlador de Ag. Las mediciones de FRX fueron realizadas considerando distancias de 1cm entre la fuente y la muestra (F-M), 1 cm para la distancia muestra detector (M-D) y a 30,4 KV y 25,4μA. La calibración previa del equipo fue realizada usando el estándar NIST-SRM 2709, que es obtenido de un suelo tipo agrícola de San Joaquín, secado en horno, tamizado y esterilizado por radiación. La adquisición de datos se realizó considerando, para cada espectro 500000 cuentas totales y un tiempo muerto inferior al 5%.

Para el estudio de los grupos funcionales presentes en la matriz se empleó un espectrómetro infrarrojo NICOLET IMPACT 410, con transformada de Fourier y de doble haz, en la región de 4000 a 400cm⁻¹, a un paso de 4cm⁻¹, aplicando la técnica de reflectancia difusa.

Para el estudio del efecto de plasmón superficial se utilizó un espectrómetro Genesys 10s UV-Vis, con lámpara de xenón, doble haz y fotodiodos duales de silicio como detectores, en el rango de 300 a 900 nm.

El tratamiento de datos fue realizado utilizando los siguiente software: Chemview versión 1.9.5; OriginPro 8 SR2 v8.0891 (B891); XPSPEAK41. Versión 4.0; ADMCA: Versión 1.0.13.17. Linseis data evaluation for Windows Version 3.00. Resolución estructural mediante Rietvelt aplicando el software Fullproff.

IX. RESULTADOS

IX.1 Espectroscopia UV-vis de absorción

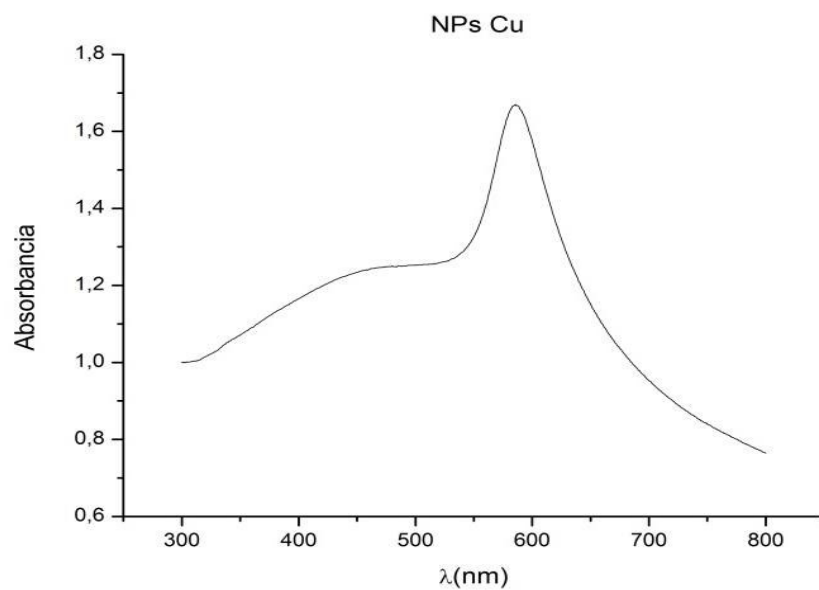


Figura 44. Espectro UV-Vis de las NPs Cu sintetizadas

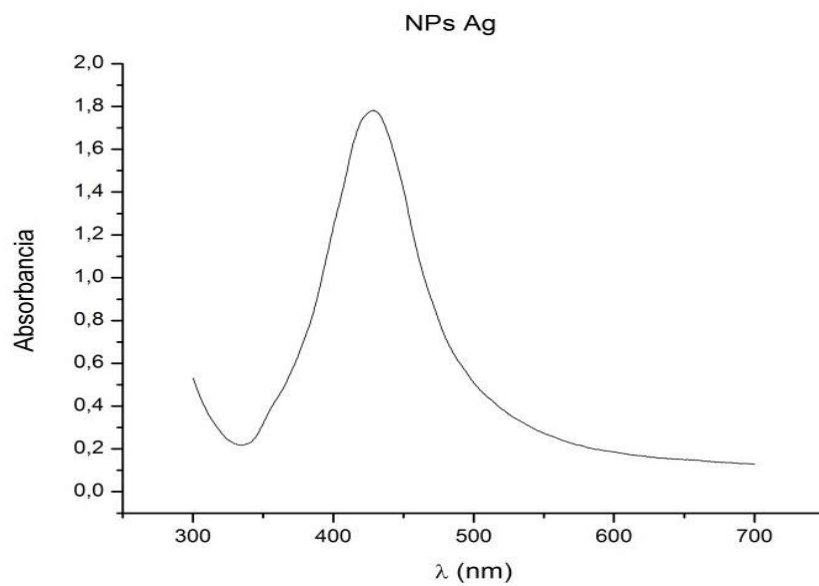


Figura 45. Espectro UV-Vis de las NPs Ag sintetizadas

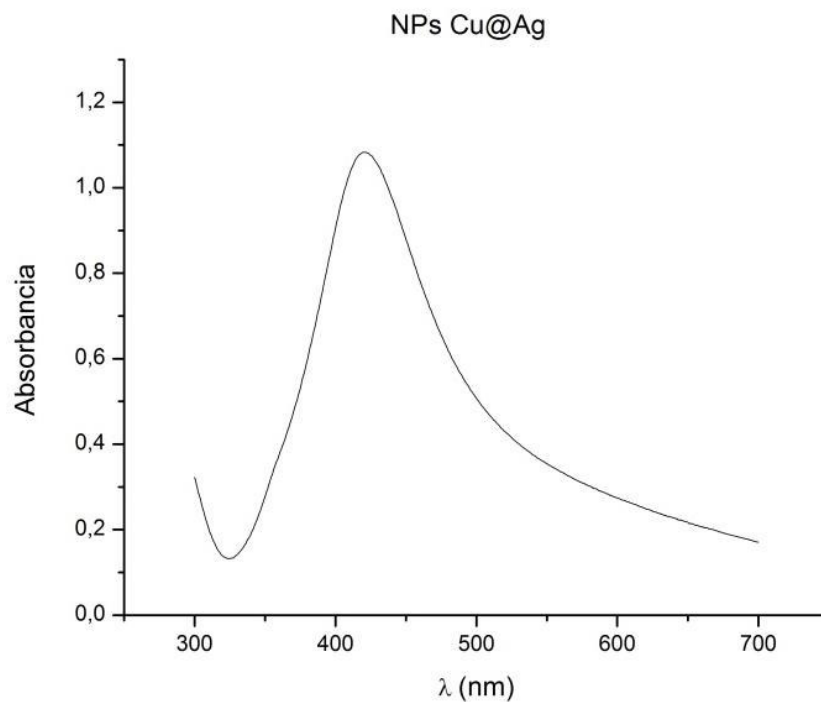


Figura 46. Espectro UV-Vis de las NPs Cu@Ag sintetizadas mediante recubrimiento electrolítico. El espectro corresponde a las NPs Cu@Ag-3

IX.1.1 Deconvolución de los espectros obtenidos

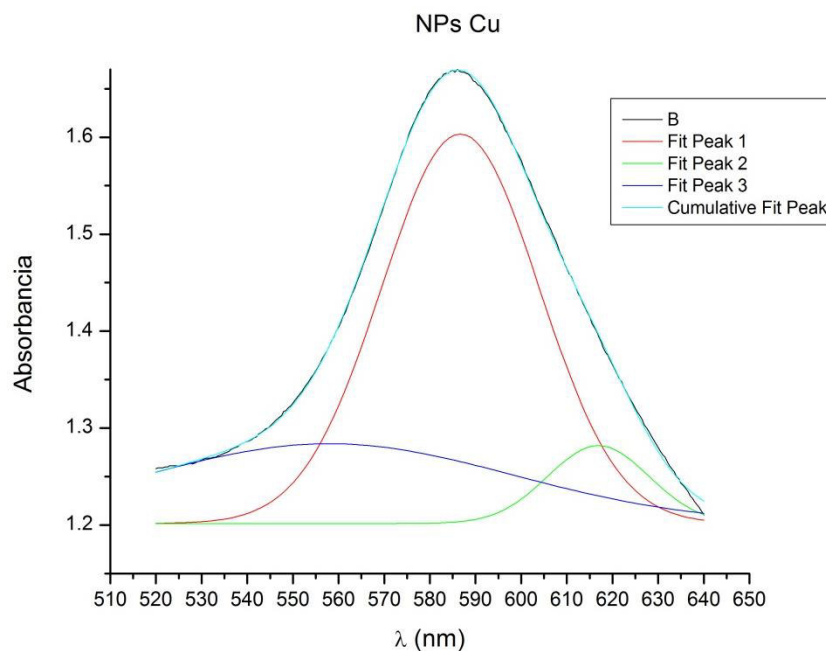


Figura 47. Deconvolución del espectro UV-vis de NPs Cu

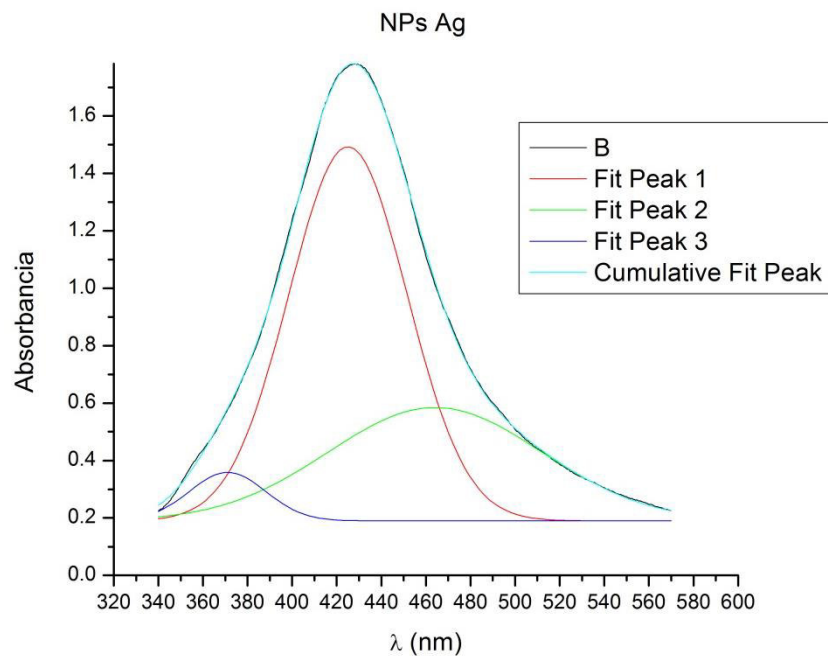


Figura 48. Deconvolución del espectro UV-vis de NPs Ag

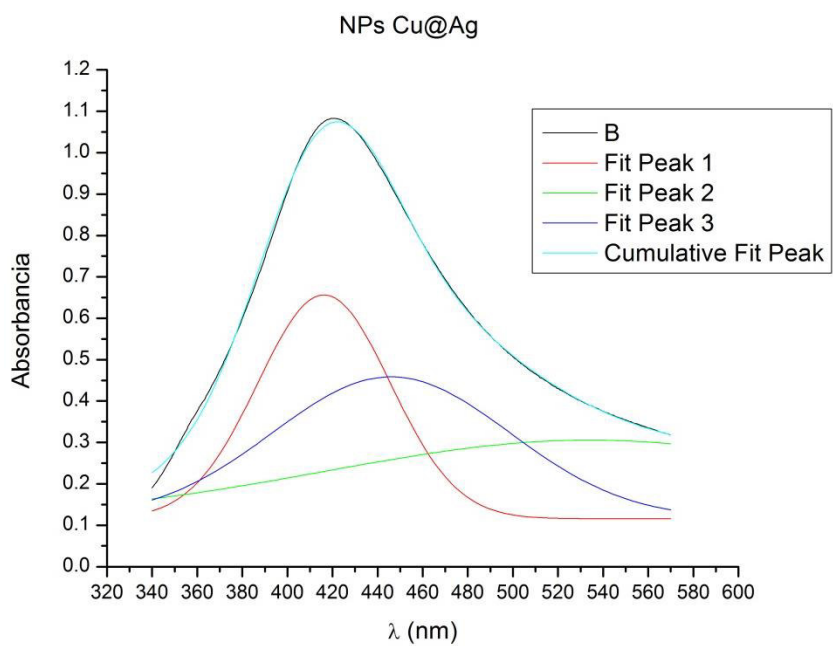


Figura 49. Deconvolución del espectro UV-vis de NPs Cu@Ag

Tabla 2. Parámetros de la deconvolución del espectro UV-vis de las NPs Cu

Model	Gauss		
Equation	$y=y_0 + (A/(w*\sqrt{\pi/2}))*\exp(-2*((x-x_c)/w)^2)$		
Reduced Chi-Sqr	6.84E-06		
Adj. R-Square	0.99969		
		Value	Standard Error
Peak1(B)	y0	1.2015	0.04051
	xc	586.68639	0.40287
	w	34.50343	0.91697
	A	17.37758	2.44119
	sigma	17.25172	
	FWHM	40.62469	
	Height	0.40185	
Peak2(B)	y0	1.2015	0.04051
	xc	616.91945	0.62797
	w	22.17564	1.55947
	A	2.23392	0.71172
	sigma	11.08782	
	FWHM	26.10982	
	Height	0.08038	
Peak3(B)	y0	1.2015	0.04051
	xc	557.93958	20.92337
	w	81.00318	53.47487
	A	8.3503	11.13541
	sigma	40.50159	
	FWHM	95.37395	
	Height	0.08225	

Tabla 3. Parámetros de la deconvolución del espectro UV-vis de las NPs Ag

Model	Gauss		
Equation	$y=y_0 + (A/(w*\sqrt{\pi/2}))*\exp(-2*((x-x_c)/w)^2)$		
Reduced Chi-Sqr	5.68E-05		
Adj. R-Square	0.99978		
		Value	Standard Error
Peak1(B)	y0	0.19005	0.00876
	xc	425.04574	0.20035
	w	52.95397	0.87789
	A	86.4799	7.15183
	sigma	26.47698	
	FWHM	62.34853	
	Height	1.30304	
Peak2(B)	y0	0.19005	0.00876
	xc	464.12801	8.78144
	w	95.9326	9.47156
	A	47.4403	10.46739
	sigma	47.9663	
	FWHM	112.952	
	Height	0.39457	
Peak3(B)	y0	0.19005	0.00876
	xc	371.03064	0.41294
	w	34.30533	1.03762
	A	7.25952	0.99708
	sigma	17.15266	
	FWHM	40.39144	
	Height	0.16884	

Tabla 4. Parámetros de la deconvolución del espectro UV-vis de las NPs Cu@Ag

Model	Gauss		
Equation	$y=y_0 + (A/(w*\sqrt{\pi/2}))*\exp(-2*((x-x_c)/w)^2)$		
Reduced Chi-Sqr	7.27E-05		
Adj. R-Square	0.99893		
		Value	Standard Error
Peak1(B)	y0	0.11583	0
	xc	416.24553	0.20614
	w	58.76982	0.353
	A	39.81526	0.53198
	sigma	29.38491	
	FWHM	69.19618	
	Height	0.54055	
Peak2(B)	y0	0.11583	0
	xc	534	0
	w	233.82695	5.74219
	A	55.60034	2.04796
	sigma	116.91348	
	FWHM	275.3102	
	Height	0.18972	
Peak3(B)	y0	0.11583	0
	xc	446	0
	w	105.19117	1.56036
	A	45.18912	0.71443
	sigma	52.59559	
	FWHM	123.85314	
	Height	0.34276	

IX.2 Espectroscopia FT-IR

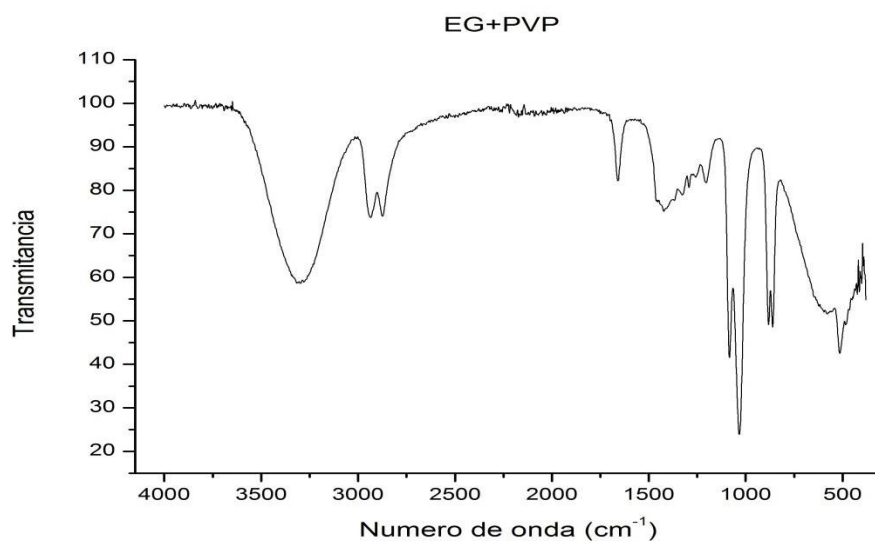


Figura 50. Espectro IR de una mezcla de EG y PVP

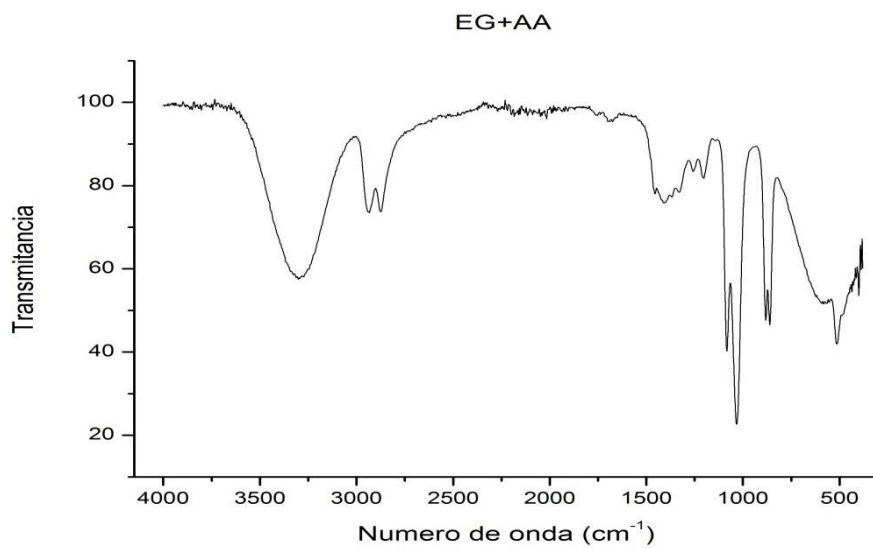


Figura 51. Espectro IR de una mezcla de EG y AA

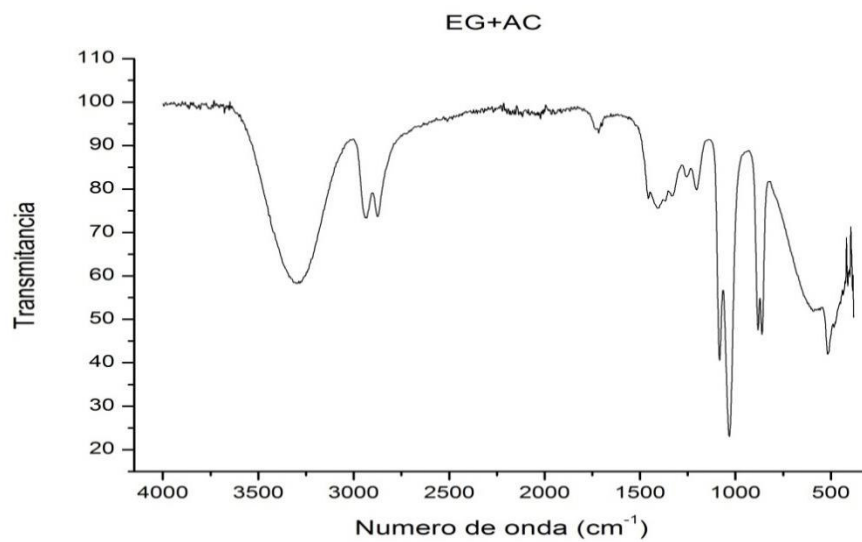


Figura 52. Espectro IR de una mezcla de EG y AC

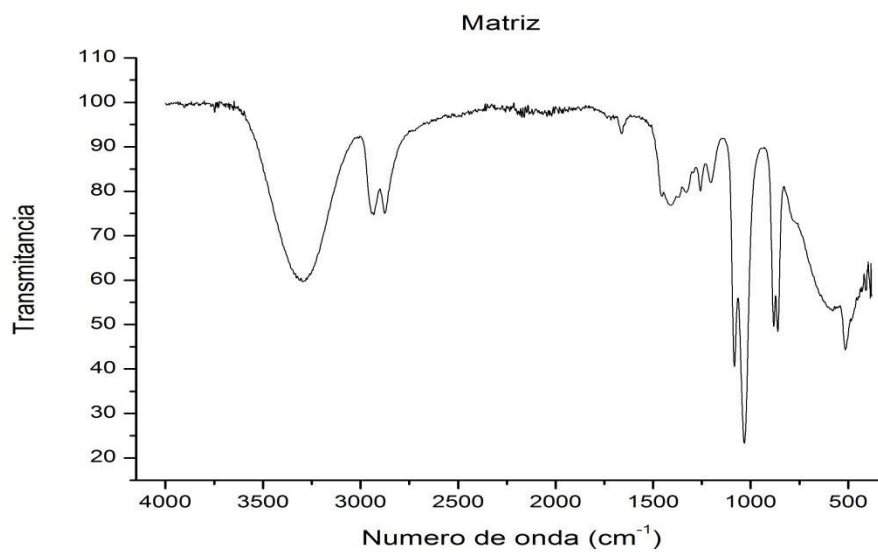


Figura 53. Espectro IR de la matriz empleada en la síntesis

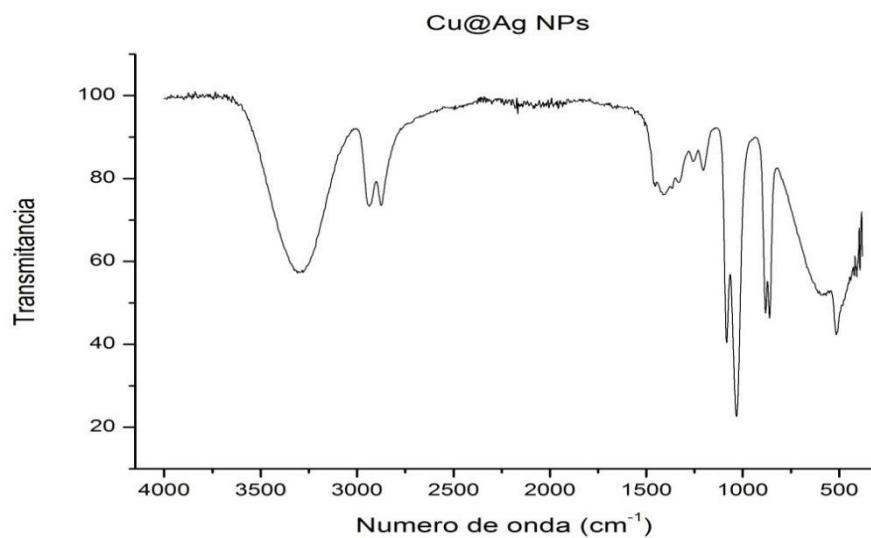


Figura 54. Espectro IR de la suspensión coloidal de Cu@Ag NPs en EG

IX.3 Difracción de rayos x (DRX)

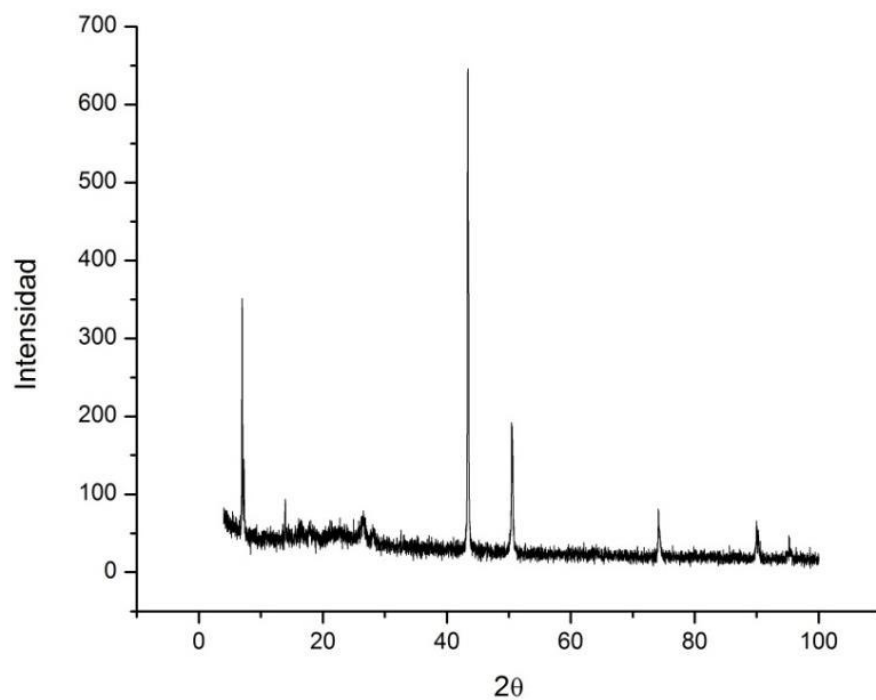


Figura 55. Difractograma de la muestra de NPs Cu

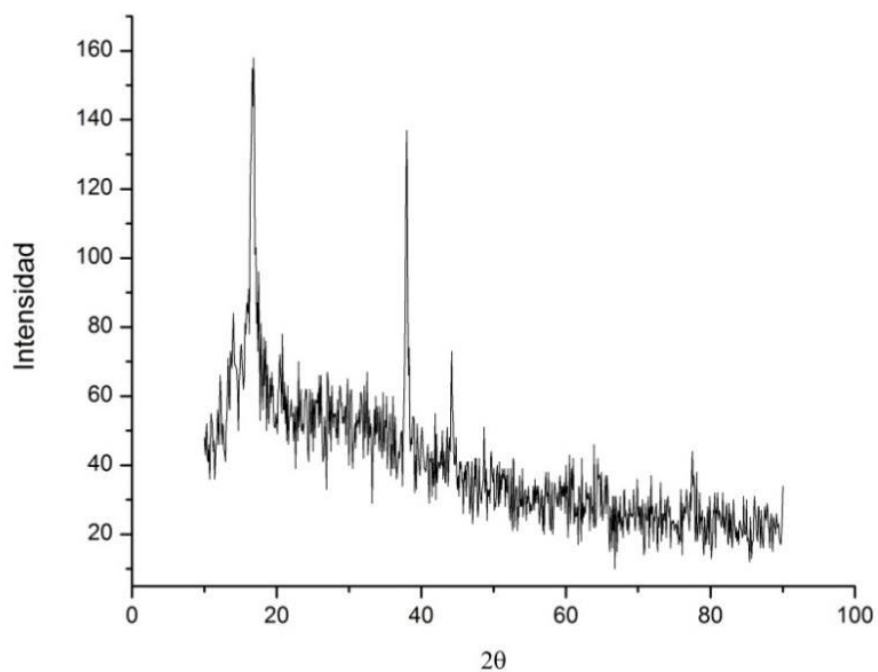


Figura 56. Difractograma de la muestra de NPs Ag

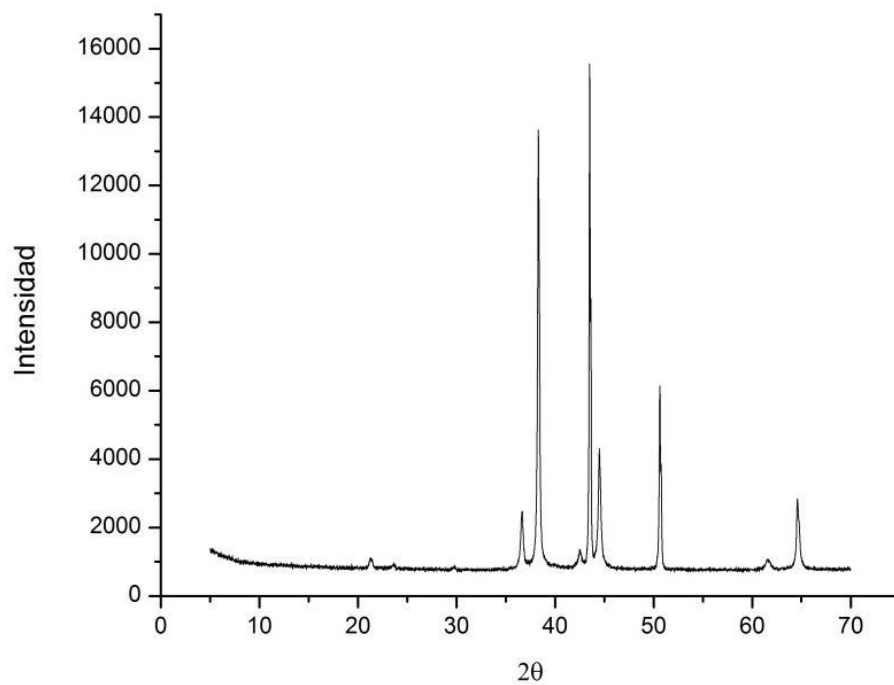


Figura 57. Difractograma de la muestra de NPs Cu@Ag

IX.4 Fluorescencia de rayos x (FRX)

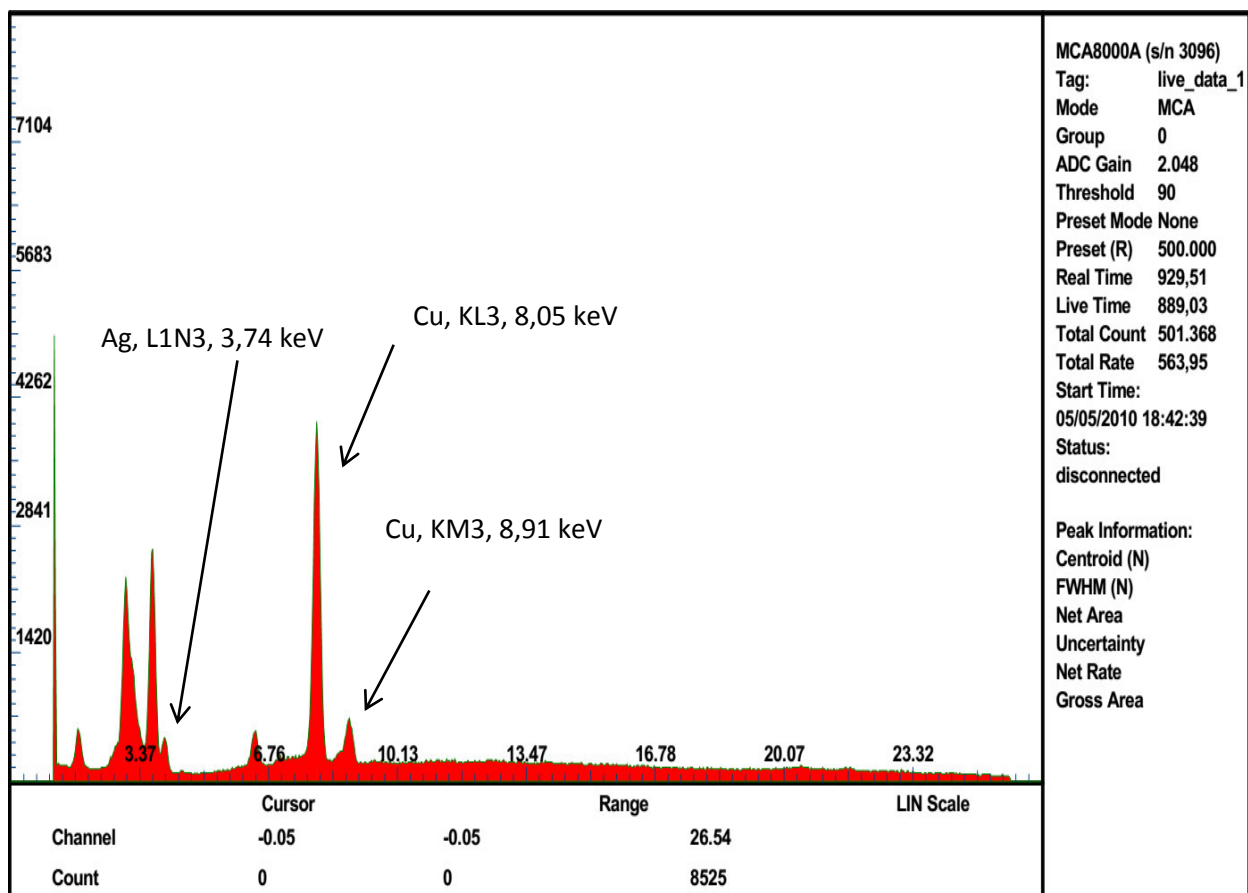


Figura 58. Espectro de fluorescencia de las NPs Cu@Ag

IX.5 Microscopia electrónica de barrido (MEB)

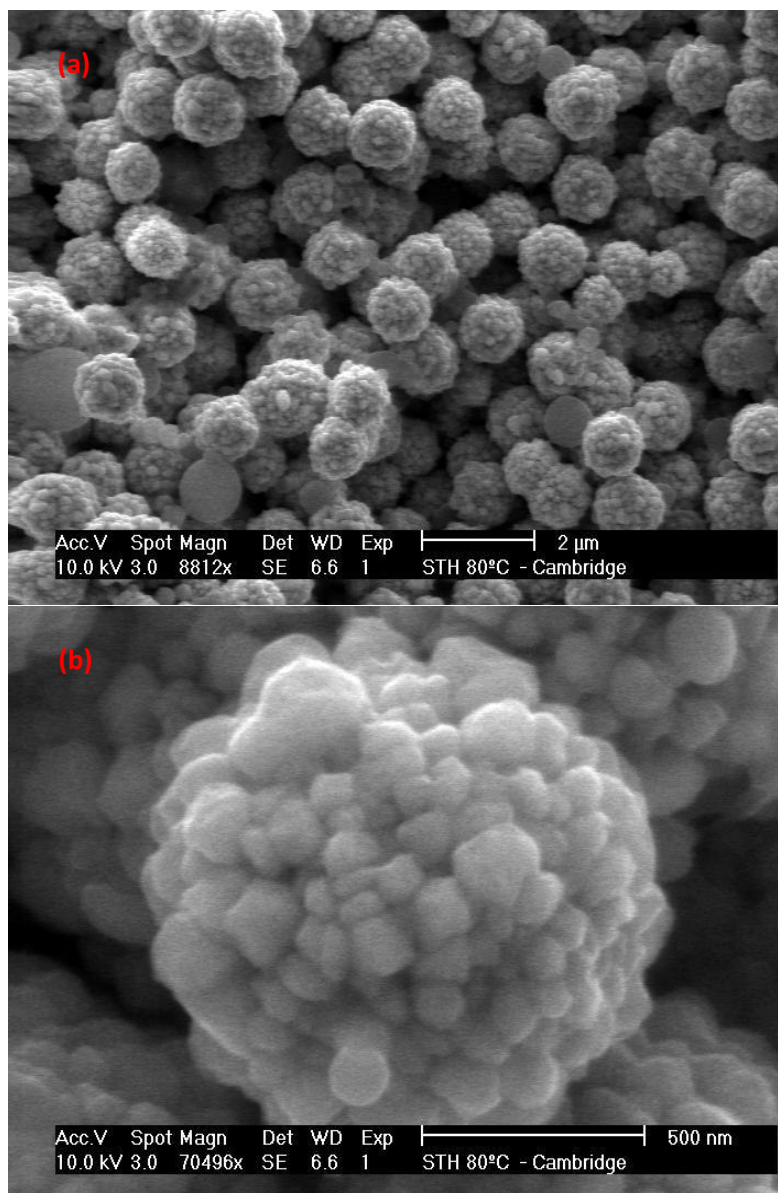


Figura 59. Imagen MEB de las NPs Cu (a) y el acercamiento a uno de los cúmulos de NPs agregadas (b)

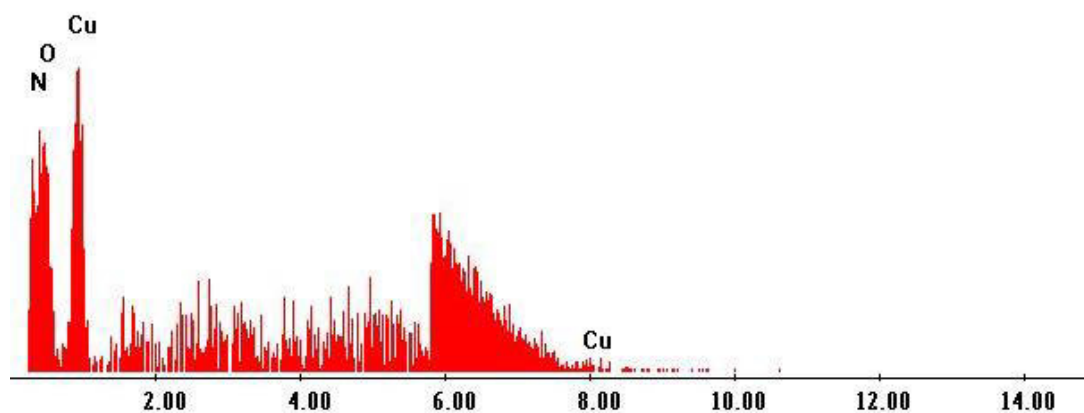


Figura 60. EDX de las NPs Cu

IX.6 Microscopia electrónica de transmisión (MET)

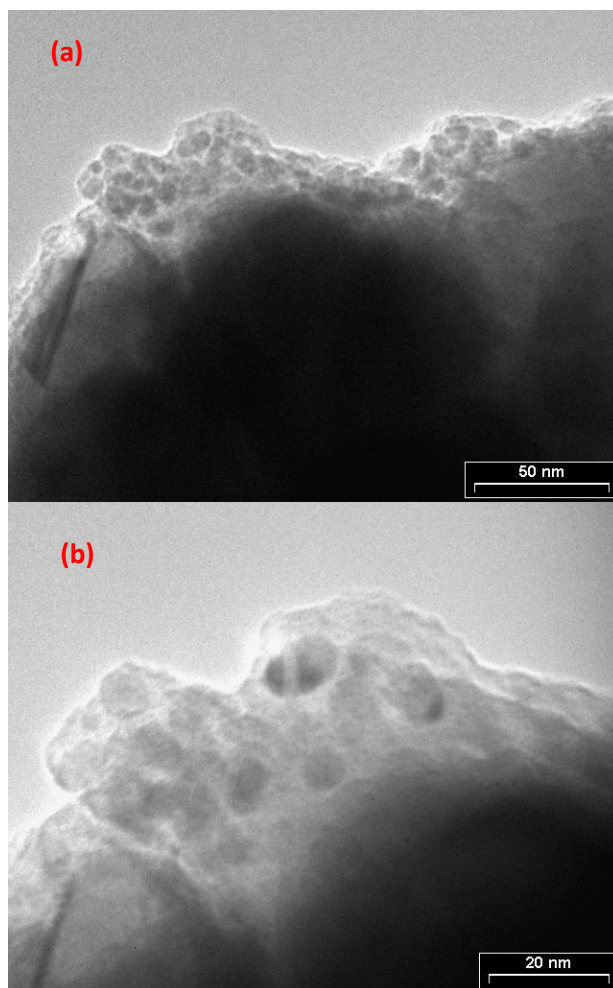


Figura 61. Imagen MET de las NPs Cu (a) y el acercamiento a las NPs visibles en los bordes (b)

IX.7 Dispersión dinámica de luz (DLS)

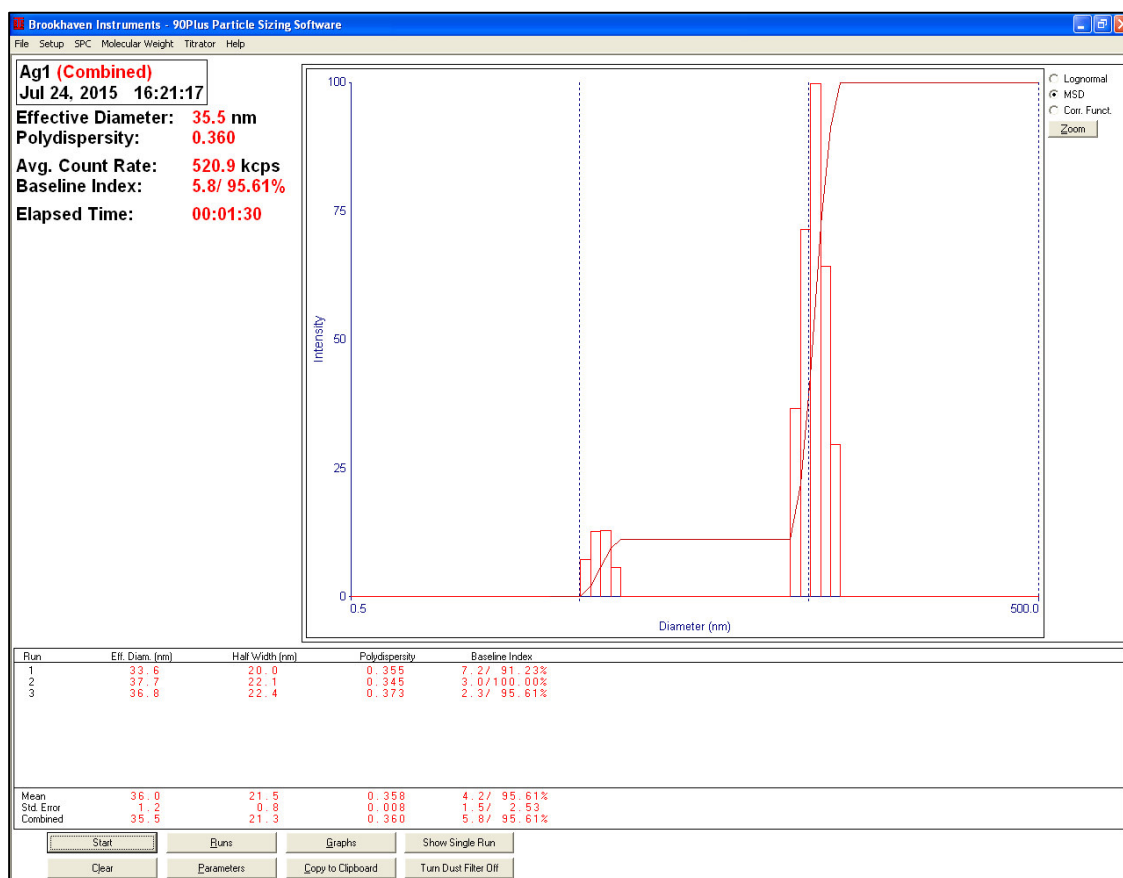


Figura 62. Análisis DLS de la muestra de Cu@Ag-3

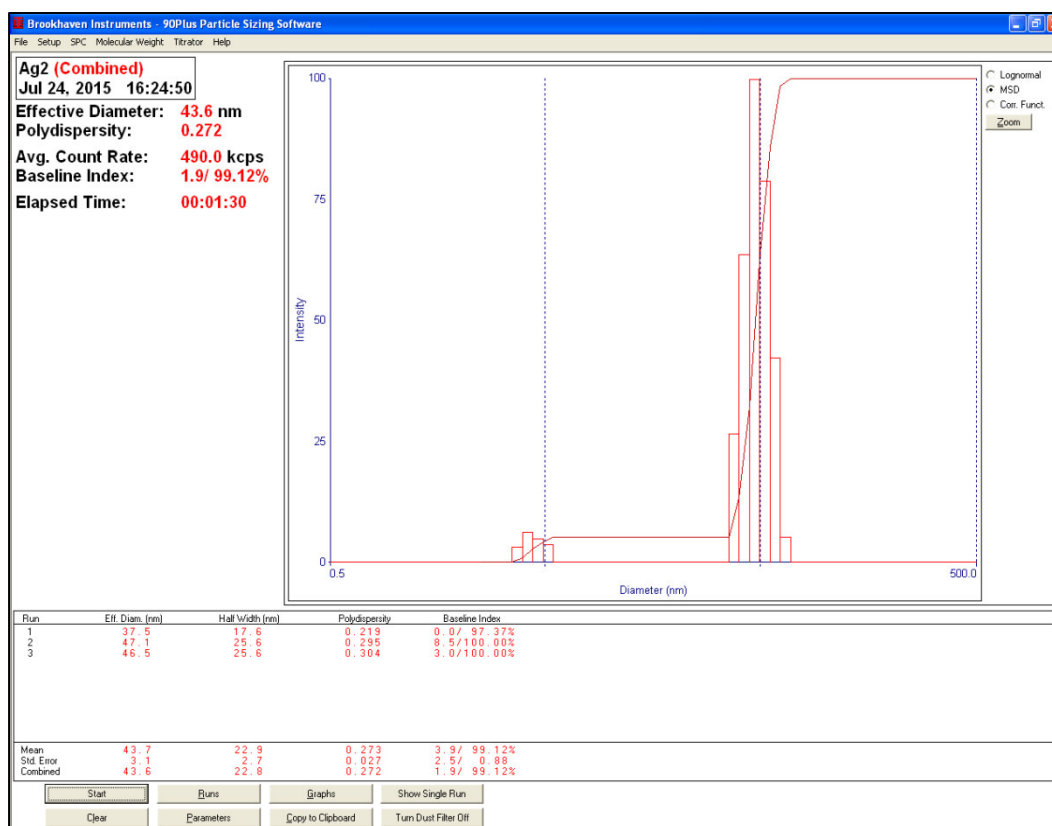


Figura 63. Análisis DLS de la muestra de Cu@Ag-4

IX.8 Síntesis

Tabla 5. Condiciones óptimas determinadas para NPs Cu@Ag con una relación Cu:Ag de 2:1

T (°C)	Relación molar			Relación de masa PVP/Cu	Tiempo de goteo AgOAc (mL/min)
	AA/Cu	AC/Cu	Cu/Ag		
70°C para la síntesis de NPs Cu y 60°C para el recubrimiento	5	4	2:1	7.5 - 8	0,8-1

IX.9 Actividad bactericida

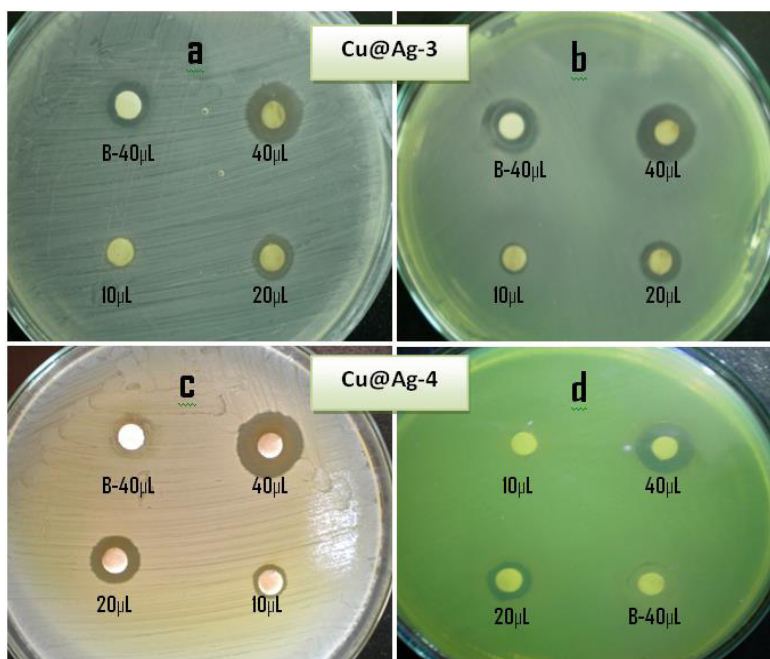


Figura 64. Halos de inhibición generados por las NPs Cu@Ag. (a) y (c) corresponden a *S. aureus* ATCC 25923 mientras que (b) y (d) a *P. aeruginosa* ATCC 27853. Las imágenes superiores fueron tomadas a las 24h de ser incubadas a 37°C, mientras las imágenes inferiores a las 72h, donde se aprecia repoblamiento de la zona de inhibición por el Blanco

Tabla 6. Promedio de los diámetros de la zona de inhibición (DIZ) de las NPs Cu@Ag

	Diámetro de los halos de inhibición (mm)							
	NPs Cu@Ag-3			Blanco	NPs Cu@Ag-4			Blanco
Microorganismos	10µL	20µL	40µL	40µL	10µL	20µL	40µL	40µL
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	6	10	12.5	8.5	8	11,5	16	7.5
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	7	10	13	11.5	5.5	9	12	10

Tabla 7. Resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) de las NPs Cu@Ag

Microorganismos	NPs Cu@Ag-3		NPs Cu@Ag-4	
	CMI	CMB	CMI	CMB
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	4,25µg/mL	4,25µg/mL	4,25µg/mL.	4,25µg/mL.
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	2,125µg/mL	4,25µg/mL	2,125µg/mL	4,25µg/mL

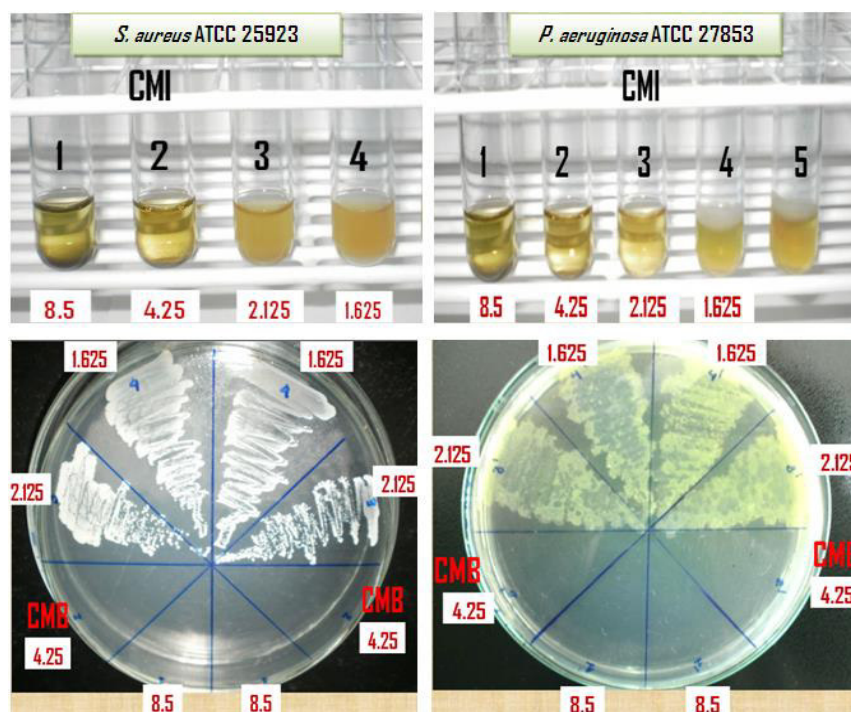


Figura 65. Resultados de la CMI y la CMB para las NPs Cu@Ag-4

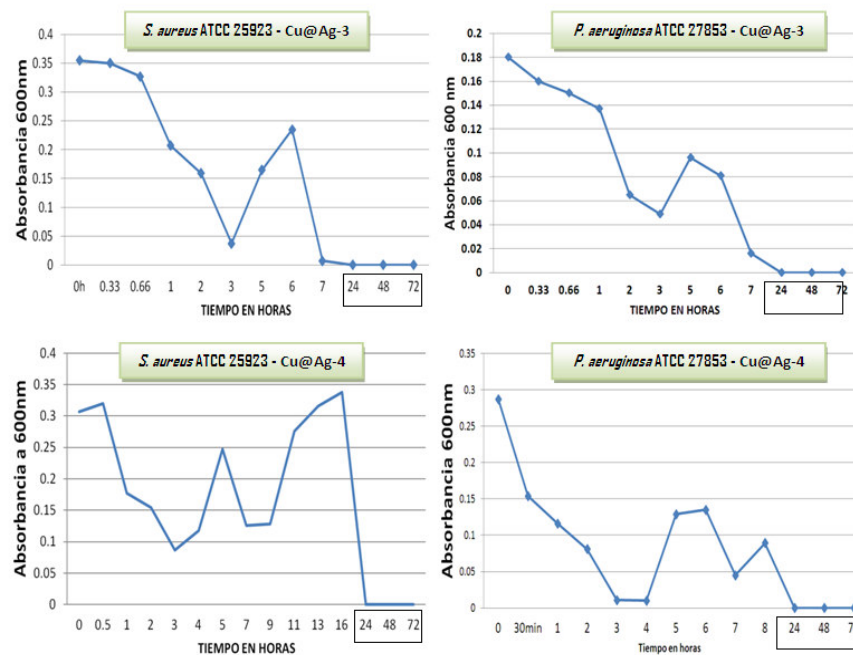


Figura 66. Cinética de muerte de las cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 en presencia de las NPs Cu@Ag-3 y Cu@Ag-4.

X. DISCUSION DE RESULTADOS

X.1 Espectroscopia UV-vis de absorción

Los espectros obtenidos para las NPs Cu y Ag (Fig. 44 y 45) muestran las bandas de resonancia de plasmón superficial (RPS), centradas en 585nm y 429nm, tal y como se esperaba para estas NPs en EG, según lo reportado en la literatura. Adicionalmente, en los espectros de las NPs de Ag y Cu@Ag (Fig. 46) se puede observar un incremento de absorbancia cerca de 300nm, lo cual se debe a la absorción de radiación por la forma oxidada del ácido ascórbico.

En el caso del espectro de las NPs Cu@Ag, este presenta una banda centrada a 421nm, muy similar a la de las NPs Ag. Ello se puede atribuir a la deposición de una capa de plata con un grosor suficientemente grande como para impedir la interacción de la radiación con la superficie interior de cobre. En el caso de que la capa de plata fuese más delgada, habría un desplazamiento de la banda hacia el rojo por la influencia del cobre (Algo que se observa con más claridad en nanoaleaciones Cu/Ag por la interacción de ambos metales con la radiación). Por otro lado, si el recubrimiento hubiese sido ineficiente se observaría la banda de RPS del cobre a alrededor de 600nm, cuya intensidad y forma dependerían de la presencia de NPs Cu libres, NPs Cu con parte de su superficie expuesta o ambos casos.

El análisis detallado de los espectros UV-vis se realizó mediante un proceso de deconvolución a fin de estimar las posibles componentes involucradas en la forma presentada por las bandas de RPS de cada tipo de nanopartícula (Fig. 47, 48, 49). El análisis de cada espectro se realizó seleccionando una sección adecuada de cada banda y representando cada gráfico como la combinación lineal de tres funciones gaussianas cuyos parámetros se muestran en las tablas 2, 3 y 4. El nivel de ajuste para cada banda analizada está representado por los valores de chi cuadrado y R^2 de cada tabla, y para cada espectro, la curva de color rojo es la que recibe la denominación de curva 1 (Peak1) en cada tabla. En los espectros de NPs Cu y Ag se observa una mayor contribución de la curva 1 a las bandas

experimentales, siendo los valores de los anchos de estas 40,62469 y 62,34853 nm, respectivamente (Valores del parámetro FWHM reportado para cada banda en las tablas 2, 3 y 4). Por otro lado, en el espectro de las NPs Cu@Ag se tiene que la contribución de las curvas 1 y 2 es similar, lo cual sugiere que hay dos poblaciones importantes de nanopartículas, las cuales difieren principalmente en su distribución de tamaños. Así, de acuerdo a lo reportado en la literatura [218], aquellas curvas que tienen un ancho de banda grande y presentan un corrimiento hacia el rojo, sugieren la presencia de poblaciones de partículas de mayor tamaño (o aglomeradas), mientras que las curvas desplazadas hacia el azul son indicativo de poblaciones de nanopartículas de menor tamaño. En ese contexto, es posible que, si bien se eligieron 3 curvas para modelar el fenómeno y tal asunción puede estar sujeta a errores, el hecho de que en el caso de las NPs Cu@Ag, la banda de RPS tenga una importante contribución de una población de NPs de mayor tamaño, se deba a que para nanopartículas de plata (y por tanto para NPs recubiertas con plata, por cuanto se trata de un fenómeno superficial) con poblaciones de distinto tamaño, la población con partículas de mayor tamaño contribuye en más alta proporción a la banda de RPS, tal y como lo indican Paramelle *et al* [219]. Se tiene adicionalmente que para las NPs Cu y Ag, los resultados de la deconvolución sugieren la contribución de una banda minoritaria desplazada hacia el azul para ambos casos. Esta banda se puede interpretar como la presencia de una población minoritaria de NPs de geometría distinta, siendo probable la presencia de nanopartículas prismáticas en el caso de las NPs Ag, como lo reportaron Millstone y su grupo en 2009 [220]. Finalmente, aunque es posible realizar estimaciones del tamaño de las NPs obtenidas, mediante el uso de los anchos de banda de sus espectros y teoría de Mie, no es posible comparar directamente los valores de ancho de banda determinados para las componentes principales de las bandas de RPS de las NPs de Ag y Cu, por cuanto los parámetros involucrados influyen de distinta manera a cada metal. Sin embargo, es posible comparar los valores de ancho de banda de las NPs Ag y Cu@Ag, por cuanto la RPS es un fenómeno superficial y, tal y como se explicó anteriormente, no hay evidencia de superficie expuesta de núcleos de cobre en el espectro de

NPs Cu@Ag. Así, las curvas principales de los espectros de las NPs Ag y Cu@Ag presentan anchos de banda de 62,34853 y 69,19618 nm, lo cual es coherente con el mayor tamaño que deberían presentar las NPs Cu@Ag.

En conclusión, se tiene que si bien existen evidencias de que el recubrimiento de las NPs Cu fue eficiente, la competencia de los mecanismos de reducción por deposición no electrolítica y por los ácidos ascórbico y cítrico tuvo una importante influencia en el crecimiento de las NPs Cu@Ag, traduciéndose ello en la presencia de una población importante de NPs mas grandes o aglomeradas.

X.2 Espectroscopia FT-IR

Este análisis fue llevado a cabo para estudiar el efecto que tiene sobre la matriz, la síntesis de las NPs y viceversa.

El análisis de los espectros muestra que todos son similares y solo se diferencian en la intensidad de la banda de estiramiento del grupo carbonilo a 1650 cm^{-1} , atribuible a los presentes en las especies PVP, AA y AC. Así, la intensidad de dicha banda disminuye de acuerdo a la serie de mezclas EG – PVP, -AA y -AC (Fig. 50, 51 y 52), debido a las cantidades relativas presentes de las tres especies. En el caso del espectro de la matriz (Fig. 53) la banda es bastante pequeña por su baja concentración con respecto al EG, que es el componente mayoritario y responsable de las demás bandas observadas. En cuanto al espectro de la matriz y las NPs Cu@Ag (Fig. 54), este no muestra la banda de estiramiento de carbonilo debido a que en esta etapa las moléculas de AA y AC han reaccionado con el cobre (y presumiblemente también con la plata durante y después del proceso de recubrimiento, dando como productos a sus especies oxidadas) y se encuentran adsorbidas sobre las NPs Cu@Ag además de estar mucho más diluidas por el considerable aumento de volumen. Adicionalmente se tiene que las moléculas en exceso de AA, AC y PVP se encuentran adsorbidas a la superficie de las NPs y, en el caso de las moléculas de AC, muchas de estas se encuentran esterificadas con moléculas de EG, lo cual afecta la aparición de la banda de carbonilo en el espectro.

Dada la presencia de moléculas orgánicas con grupos carboxílicos (AC y AA), cabría esperar la presencia de la pronunciada banda a 3300 cm^{-1} debido a dichos grupos en los espectros de las mezclas EG – AA, - AC y de la matriz. Sin embargo, solo se observa la banda de estiramiento de O – H a 3300 cm^{-1} , siendo ello el resultado de la enorme diferencia de concentraciones entre el solvente (EG) y los ácidos. Así, dado que el EG se encuentra en gran exceso, la banda de los grupos O - H de este glicol enmascara a la de los O- H de los grupos carboxílicos del AA y del AC.

X.3 Difracción de rayos x (DRX)

Se realizó un análisis por DRX para determinar la composición y la estructura de las NPs sintetizadas.

Solo se observan las fases de Cu y Ag (Fig. 55 y 56) con una estructura cubica centrada en las caras (FCC) y no hay señal alguna de su aleación.

En el difractograma de las NPs Cu@Ag (Fig. 57) se pueden identificar claramente las fases de cobre y plata. En cuanto a la fase de plata se tienen los picos a 38,1, 44,2, 64,4 y 77,5 correspondientes a los planos (111), (200) y (220) respectivamente y a una estructura cubica centrada en las caras (FCC). Para el cobre se observan picos a valores de 2θ iguales a 43,3, 50,4 y 74,1, correspondientes a los planos (111), (200), (220) y (311). No se observan picos correspondientes a las especies oxidadas Ag_2O , Cu_2O , o CuO , y tampoco hay señal alguna de la aleación de los metales.

Estos datos confirman la presencia de una estructura con fases separadas de cobre y plata en las NPs obtenidas. También, junto con el espectro UV-Vis, es posible confirmar la ausencia de una estructura tipo aleación o bicompartimental. Con respecto a esto último, si se tuviera una aleación se observarían picos de la mezcla de las fases de Cu y Ag, y el espectro UV-Vis se desplazaría hacia el rojo. En el caso de tener NPs bicompartimentales, se tendría una segunda banda bien definida en el espectro UV-Vis, mientras que el difractograma se mantendría igual al estar separadas las fases de Cu y Ag.

X.4 Fluorescencia de rayos x (FRX)

Se analizaron las NPs Cu@Ag por FRX (Fig. 58) para determinar su composición. En el espectro obtenido se pueden observar los picos de cobre a 8,05 y 8,91 correspondientes a las líneas de emisión KL3 y KM3 respectivamente. En el caso de la plata se observa el pico a 3,74 correspondiente a la línea L1N3. A continuación se muestra una tabla con algunas de las energías referenciales para el cobre y la plata.

Tabla 8. Listado de algunas energías de emisión de FRX para Cu y Ag

Cu			Ag		
Líneas de emisión K			Líneas de emisión L		
Línea	Energía (keV)	Proporción	Línea	Energía (keV)	Proporción
KL2	8.0279	0.29913	L1M2	3.2034	0.00871
KL3	8.0478	0.58282	L1M3	3.2344	0.0145
KM2	8.9053	0.03989	L1N2	3.7432	0.00156
KM3	8.9053	0.07816	L1N3	3.7499	0.00261
Líneas de emisión L			L2M1	2.8062	0.00639
L1M2	1.0225	0.00266	L2M4	3.1509	0.21605
L1M3	1.0225	0.00490	L2N1	3.4285	0.00123
L2M1	0.8312	0.01447	L2N4	3.5204	0.02020
L2M4	0.9494	0.25409	L3M1	2.6336	0.02396
L3M1	0.8113	0.04233	L3M4	2.9783	0.06498
L3M4	0.9295	0.06908	L3M5	2.9844	0.57663
L3M5	0.9295	0.61150	L3N1	3.2559	0.00455
L3N1	0.9311	0.00097	L3N4	3.3478	0.00598
-	-	-	L3N5	3.3478	0.05266

X.5 Microscopia electrónica de barrido (MEB)

En la figura 59 se muestran las imágenes MEB de las NPs Cu utilizadas para la posterior obtención de NPs Cu@Ag. Se puede observar que las NPs Cu obtenidas se encuentran formando cúmulos en forma de racimo, aunque esta disposición podría ser resultado del tratamiento previo de la muestra. En la imagen de acercamiento (Fig. 59-b) se puede observar que los cúmulos están formados por partículas esféricas de menor tamaño.

En cuanto al EDX (Fig. 60), el espectro obtenido muestra el pico característico de cobre y adicionalmente picos de O y N, atribuidos a los grupos oxigenados de los reactivos empleados, y al PVP respectivamente.

X.6 Microscopia electrónica de transmisión (MET)

Las imágenes MET obtenidas (Fig. 61) muestran que, tal y como se observó en el análisis MEB, el sistema de NPs Cu obtenido presenta partículas cuyo tamaño es menor que aquel de los cúmulos observados. En ese sentido, se encontró que los tamaños de las partículas individuales oscilan alrededor de 20 nm.

Al respecto de la ausencia de cúmulos en las imágenes de este análisis, se podría atribuir este hecho a la diferencia del tratamiento previo que recibieron las muestras.

X.7 Dispersión dinámica de luz (DLS)

Según lo observado en la figura 62, se tiene que el diámetro hidrodinámico promedio determinado para las NPs Cu@Ag-3 es de 35,5 nm y que la distribución de tamaños presenta un índice de polidispersión de 0,360. Por otro lado para las NPs Cu@Ag-4 (Fig. 63) se tiene un diámetro de 43,6 y un índice de polidispersión de 0,272. Este resultado sugiere que las NPs Cu que son recubiertas mediante un goteo lento presentan menor aglomeración pero una mayor polidispersión, mientras que aquellas en las que se emplea un goteo más rápido tienden a aglomerarse más pero presentan menor polidispersión. Si se compara este resultado con el del análisis de los espectros UV-vis es posible encontrar una aparente relación entre la mayor dispersión encontrada en las NPs tipo 3 mediante DLS y las componentes determinadas por deconvolución, para la banda resultante de RPS.

X.8 Síntesis

Se evaluaron distintos parámetros en la síntesis de las NPs Cu@Ag, con el fin de determinar las condiciones experimentales más óptimas para su obtención.

El cobre se oxida fácilmente en la solución por la presencia de O₂, por ello se burbujeó N₂ durante la síntesis de las NPs Cu y la deposición de la plata, para suprimir la oxidación

El hecho de que las NPs Cu@Ag sintetizadas presentaran una alta estabilidad a lo largo del tiempo, siendo prueba de ello el hecho de que no mostraran signos de oxidación luego de más de un año de almacenaje, es un indicador del de que la utilización de cantidades en exceso de AA y AC cumple un rol fundamental en la preparación de estas NPs.

En cuanto a la síntesis de las NPs Cu, se planteó la agregación del AC durante la formación de Cu⁺, teniendo como fundamento el hecho de que el potencial de reducción para el par Cu⁺ - Cu⁰ es el más alto (0,52 V) de los tres presentados para el cobre en la sección VI.7.1.2 (Rxn. 2 ,3 y 4). Así, dado que para la obtención de nanopartículas con baja dispersión de tamaños y bajo tamaño promedio, se necesita que la reducción sea muy rápida, eficiente y genere la mayor cantidad de núcleos posibles (Sección VI.2.2), la obtención de NPs a partir de un sistema con Cu⁺ resulta factible por cuanto la reducción del ion monovalente está más favorecida termodinámicamente si se la compara con los otros dos casos. En ese sentido, la adición de AC durante la etapa de máxima concentración de los iones Cu⁺ (Momento en que el color del intermediario amarillo descrito en la sección experimental VIII.3.1 alcanza su máxima intensidad como resultado del incremento en la concentración de la especie Cu⁺) favorece la formación masiva de centros de nucleación cuyo crecimiento se limita por una menor disponibilidad de cobre disuelto después de esta primera etapa de reducción. En relación a ello, cabe mencionar que lo que se plantea no es que la segunda etapa de reducción se lleve a cabo exclusivamente por el AC, sino que este promueve la reducción conjunta con el AA.

La estabilidad encontrada en las NPs sintetizadas se atribuye, además de la presencia de PVP, al hecho de que se emplearon cantidades en exceso de AA y AC, y precursores carboxílicos para los metales. Así, las nanopartículas obtenidas se encuentran en un ambiente reductor y antioxidante proporcionado por las cantidades residuales de los dos ácidos y, adicionalmente, los carboxilatos adsorbidos sobre la superficie de las NPs cumplen también un papel estabilizante.

Al respecto del mecanismo de formación de las NPs Cu@Ag, se tiene que el grosor de la capa depositada de Ag es el resultado de una combinación de mecanismos, ya que el desplazamiento galvánico por sí solo no explicaría totalmente ello. Así, En primer lugar se tiene que el desplazamiento esta autolimitado por la interacción de los iones Ag^+ con la superficie de las NPs Cu. De esta manera, el proceso estaría limitado teóricamente a la deposición de una capa monoatómica de plata, cuya formación estaría afectada por la interferencia entre las especies orgánicas adsorbidas sobre las NPs Cu y los sitios disponibles para reaccionar con los iones Ag^+ , algo que no explica que la capa de plata sea suficientemente ancha como para evitar la interacción de la luz UV con la superficie de cobre (de manera similar a un efecto de apantallamiento). En ese sentido, se tendría que además del mecanismo de transmetalación, estaría involucrado también un mecanismo de reducción y deposición de los átomos de plata sobrantes por la acción reductora del AA. Cabe mencionar que teniendo en cuenta la facilidad de reducción de la plata con AA a temperaturas bajas, a la temperatura empleada (50-60°C) ambos mecanismos estarían actuando en conjunto. Sin embargo para entender la eficiencia del método se debe asumir que a las condiciones empleadas, el desplazamiento galvánico esta favorecido termodinámicamente. De esta manera el recubrimiento inicial de las NPs Cu por desplazamiento galvánico, ocurriría con mayor rapidez (aunque a su vez estarían formándose libremente átomos de plata libres, reducidos por el AA, pero a una velocidad más lenta y contribuyendo con el recubrimiento) que el desplazamiento galvánico hasta que la superficie de todas las NPs Cu fueran cubiertas, luego de lo cual los iones Ag^+ restantes serían reducidos y depositados sobre la superficie

de las NPs Cu@Ag iniciales, explicando así el grosor de las NPs de la capa de plata.

X.9 Actividad bactericida

La actividad antibacterial de las nanopartículas Cu@Ag-A y Cu@Ag-B, fue comparada con dos cepas bacterianas, utilizando el diámetro de la zona de inhibición (DZI) que refleja la magnitud de susceptibilidad de los microorganismos. Los resultados semicuantitativos que se obtuvieron para este estudio antibacterial evidenciaron una alta sensibilidad bacteriana proporcional al volumen utilizado para ambos tipos de NPs (Tabla 3). La generación de los halos de inhibición fue medida sobre agar en placas, utilizando una regla con 1mm de resolución. El blanco generó halos de inhibición similares a los de la muestra de 20µL (Fig. 64).

Se encontró un valor de 4,25µg/mL tanto para la CMI como para la CMB de la cepa ATCC 25923. Para la cepa ATCC 27853 se determinó una CMB de 4,25µg/mL y una CMI de 2,125µg/mL (Tabla 4). Las NPs Cu@Ag-3 y Cu@Ag-4 no mostraron diferencia entre ellas con respecto a su efecto microbiológico. La cepa Gram (-) ATCC 27853 demostró ser más sensible que la Gram (+) ATCC 25923 (Fig. 65).

Las NPs Cu@Ag fueron colocadas, a una concentración bactericida de 4,25µg/mL, en tubos centrífuga de volumen final de 25mL de caldo BHI. El número de células bacterianas inoculadas en fase logarítmica terminal fue de 107células/mL, al 2,5%. Se evaluó durante 7h, mediante espectroscopia UV-vis a 600nm, la cinética de muerte de las cepas ATCC incubadas a 37°C, en agitación a 220 rpm durante 72 horas, previamente reactivadas en caldo BHI. Los resultados evidenciaron dos caídas a las 3 y 7 horas con leves recuperaciones. Como un caso excepcional se amplió la evaluación a las 16 horas para la cepa ATCC 25923 observándose una curva de crecimiento mayor (Fig. 66).

Las células bacterianas tratadas con las NPs fueron sembradas en placas con agar BHI que fueron encubadas por 24 hrs a 37°C, no encontrándose ninguna

célula viable (célula capaz de dividirse y formar una colonia en el medio de cultivo), corroborando así el alto efecto bactericida de estos nanomateriales evaluados.

XI. CONCLUSIONES

Los resultados indican que la configuración propuesta para los parámetros de síntesis (concentración de reactivos, tiempos de goteo, temperatura, burbujeo de gas inerte, etc), permite obtener nanopartículas altamente estables, siendo el tiempo de goteo del acetato de plata y el exceso de AC los parámetros más decisivos para lograr un recubrimiento eficiente. En cuanto a la distribución de tamaños de las NPs, se tiene que aún es necesario estudiar los parámetros implicados en el control del mecanismo de reducción por las especies reductoras AA y AC, ya que existe evidencia de que el método propuesto da como resultado distribuciones aparentemente bimodales como resultado de la competencia del mecanismo mencionado y el de deposición no electrolítica. Así, en suma se tiene que, mediante la ejecución del presente proyecto de tesis y en base a los análisis realizados, se ha demostrado que el método propuesto permite obtener NPs Cu@Ag altamente estables y, aunque sea necesario optimizar la etapa de recubrimiento por el comportamiento de las distribuciones de tamaños obtenidas, se podría extender su uso para la síntesis de otros tipos de NPs con configuración core@shell.

En cuanto a los análisis bacteriológicos, se tiene que las NPs Cu@Ag poseen una elevada actividad bactericida frente a las cepas evaluadas, la cual es dependiente de su concentración (presentando actividad bacteriológica incluso a bajas concentraciones) pero independiente del grado de dispersión (por lo menos en el rango evaluado). En ese sentido, la elevada actividad bactericida de estas NPs, aunada a su estabilidad, abre las puertas a su potencial uso como materia prima para la funcionalización de diversos materiales, principalmente polímeros.

XII. RECOMENDACIONES

Se considera que cualquier trabajo en el que se replique o modifique lo expuesto en la presente tesis debería tener en cuenta las siguientes recomendaciones:

- Monitorear cuidadosamente los tiempos de adición de los reactivos durante la síntesis de las NPs Cu, especialmente si no se dispone de un equipo para realizar adiciones controladas.
- Procurar que la síntesis de las NPs Cu se realice bajo atmosfera inerte.
- Tener en cuenta que el momento de adición del AC tiene un efecto considerable sobre el tamaño de las NPs Cu resultantes.
- Las cantidades relativas de Cu, AC y AC tienen gran influencia sobre el tamaño y la estabilidad de las NPs Cu, y sobre la eficiencia del recubrimiento.
- Monitorear la velocidad de goteo durante la etapa de recubrimiento.

XIII. BIBLIOGRAFIA

- 1.- The Nanotechnology Used in Clothes. Disponible en: <
<http://www.nanobusiness.org/the-nanotechnology-used-in-clothes.html>>.
- 2.- Salvati, E., Stellacci, F., & Krol, S. (2015). Nanosensors for early cancer detection and for therapeutic drug monitoring. *Nanomedicine*, 10, 23, 3495-3512.
- 3.- Nanoparticle Applications and Uses. Disponible en: <
<http://www.understandingnano.com/nanoparticles.html>>.
- 4.- Guzman, A., Verde, L., & León, O. (2015). Síntesis y caracterización de nanocompuestos tipo matriz de policloruro de vinilo aditivado con nanopartículas de cobre (PVC/NPsCu). *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 17, 1, 09-14.
- 5.- Guzman, A., Cárcamo, H., & León, O. (2015). Elaboración y caracterización estructural de fibras de tereftalato de polietileno (PET) dopadas con nanocobre (0) utilizando proceso de extrusión. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 17, 2, 9-13.
- 6.- Solis, J. Síntesis y caracterización del compuesto fibra de algodón - nanopartículas de CuO con propiedades antimicrobianas y fungicidas. Proyecto CONCYTEC, PROCYT 2842010.
- 7.- Lue, Juh Tzeng. Physical Properties of Nanomaterials. *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, American scientific publishers, 2007, vol. 10, no 1.
- 8.- Schauermaann, S.; Nilius, N.; Shaikhutdinov, S.; Freund, H. J. Nanoparticles for heterogeneous catalysis: new mechanistic insights. *Accounts of chemical research*, 2012, 46, 8, 1673-1681.
- 9.- Melendez, R. G.; Moreno, K. J.; Moggio, I.; Arias, E.; Ponce, A.; Llanera, I.; Moya, S. E. On the influence of silver nanoparticles size in the electrical conductivity of PEDOT: PSS. En *Materials Science Forum*, 2010, 644, 85-90.
- 10.- Nehl, C. L.; Liao, H.; Hafner, J. H. Optical properties of star-shaped gold nanoparticles. *Nano Letters*, 2006, 6, 4, 683-688.
- 11.- Rong, W.; Ding, W.; Maedler, L.; Ruoff, R. S.; Friedlander, S. K. Mechanical properties of nanoparticle chain aggregates by combined AFM and SEM: Isolated aggregates and networks. *Nano letters*, 2006, 6, 12, 2646-2655.

12.- Ederth, J.; Johnsson, P.; Niklasson, G. A.; Hoel, A.; Hultåker, A.; Heszler, P.; Burgard, D. Electrical and optical properties of thin films consisting of tin-doped indium oxide nanoparticles. *Physical Review B*. 2003, 68, 15, 155410.

13.- Gubin, S. P.; Koksharov, Y. A.; Khomutov, G. B.; Yurkov, G. Y. Magnetic nanoparticles: preparation, structure and properties. *Russian Chemical Reviews*. 2005, 74, 6, 489.

14.- Lin, C.; Tao, K.; Hua, D.; Ma, Z.; Zhou, S. Size effect of gold nanoparticles in catalytic reduction of p-nitrophenol with NaBH₄. *Molecules*, 2013, 18, 10, 12609-12620.

15.- Waste Management World. New palladium-gold nanoparticle catalysts recycle high value products from glicerol. Disponible en: < <http://www.waste-management-world.com/articles/2014/07/new-palladium-gold-nanoparticle-catalysts-recycle-high-value-products-from-glycerol.html>>.

16.- The Hindu. Turning a simple optical microscope into a powerful tool. Disponible en: <<http://www.thehindu.com/sci-tech/science/turning-a-simple-optical-microscope-into-a-powerful-tool/article6288185.ece>>.

17.- Newswise. Brookhaven National Laboratory. Nanostructured Metal-Oxide Catalyst Efficiently Converts CO₂ to Methanol. Disponible en: <<http://www.newswise.com/articles/nanostructured-metal-oxide-catalyst-efficiently-converts-co2-to-methanol>>.

18.- Li, H.; Wu, J.; Huang, X.; Yin, Z.; Liu, J.; Zhang, H. A Universal, Rapid Method for Clean Transfer of Nanostructures onto Various Substrates. *ACS nano*, 2014, 8, 7, 6563-6570.

19.- Extremetec. The liquid hard drive that could store a terabyte of data in a tablespoon. Disponible en: <<http://www.extremetech.com/extreme/186797-the-liquid-hard-drive-that-could-store-a-terabyte-of-data-in-a-tablespoon-of-fluid>>.

20.- Heddle, J. G. Gold nanoparticle-biological molecule interactions and catalysis. *Catalysts*, 2013, 3, 3, 683-708.

21.- Hu, Jianqiang; Wang, Zhouping; LI, Jinghong. Gold nanoparticles with special shapes: controlled synthesis, surface-enhanced Raman scattering, and the application in biodetection. *Sensors*, 2007, 7, 12, 3299-3311.

22.- Tan, Y.; Li, Y.; Zhu, D. Noble metal nanoparticles. *Encyclopedia of nanoscience and nanotechnology*, 2004, 8, pp 9-40.

- 23.-** Ngô, C.; Van de Voorde, M. H. Nanomaterials: Doing More with Less. En *Nanotechnology in a Nutshell*. Atlantis Press, 2014; pp 55-70.
- 24.-** Ko, S. H.; Choi, Y.; Hwang, D. J.; Grigoropoulos, C. P.; Chung, J.; Poulikakos, D. Nanosecond laser ablation of gold nanoparticle films. *Applied physics letters*, 2006, 89, 14, 141126(1) – 141126(3).
- 25.-** Minelli, C. Bottom-up approaches for organizing nanoparticles with polymers. Tesis Doctoral, SECTION DE CHIMIE ET GÉNIE CHIMIQUE POUR L'OBTENTION DU GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PAR laurea in fisica, Università degli Studi di Firenze, 2004.
- 26.-** Vasiliev, A. N.; Gulliver, E. A.; Khinast, J. G.; Riman, R. E. Highly dispersible polymer-coated silver nanoparticles. *Surface and Coatings Technology*, 2009, 203, 19, 2841-2844.
- 27.-** Navin, C.; Bajpai, S. K.; Mary, G. Copper alginate-cotton cellulose (CACC) fibers with excellent antibacterial properties. *J Engineered Fibers and Fabrics*, 2009, 4, 24-35.
- 28.-** Cushing, B. L.; Kolesnichenko, V. L.; O'Connor, C. J. Recent advances in the liquid-phase syntheses of inorganic nanoparticles. *Chemical reviews*, 2004, 104, 9, 3893-3946.
- 29.-** Perkampus, H. H. UV-VIS Spectroscopy and its Applications. Berlin: Springer-Verlag, 1992. pp 1-9.
- 30.-** Wikipedia. Espectroscopia Ultraviolet-visible spectroscopy. Disponible en: <http://en.wikipedia.org/wiki/Ultraviolet%E2%80%93visible_spectroscopy>.
- 31.-** Kumar, C. S. (Ed.). UV-VIS and Photoluminescence Spectroscopy for Nanomaterials Characterization. Springer, 2013; pp 5-7.
- 32.-** Chen, C. F.; Tzeng, S. D.; Chen, H. Y.; Lin, K. J.; Gwo, S. Tunable plasmonic response from alkanethiolate-stabilized gold nanoparticle superlattices: Evidence of near-field coupling. *Journal of the American Chemical Society*, 2008, 130, 3, 824-826.
- 33.-** Chang, T. H.; Chang, Y. C.; Ko, F. H.; Liu, F. K. Electroless Plating Growth Au-Ag Core-Shell Nanoparticles for Surface Enhanced Raman Scattering. *Int. J. Electrochem. Sci.* 2013, 8, 5, 6889-6899.
- 34.-** Zhang, J., Yuan, Y., Xu, X., Wang, X., Yang, X. Core/Shell Cu@ Ag Nanoparticle: A Versatile Platform for Colorimetric Visualization of Inorganic Anions. *ACS applied materials & interfaces*, 2011, 3, 10, 4092-4100.

- 35.-** Waseda, Y.; Matsubara, E.; Shinoda, K. X-ray diffraction crystallography: introduction, examples and solved problems. Springer, 2011; pp 67-75.
- 36.-** Guinebretière, R. X-ray diffraction by polycrystalline materials. John Wiley & Sons. 2010.
- 37.-** Life Sciences Foundation. X-ray crystallography. Disponible en: http://lifesciencesfoundation.org/events-Xray_crystallography.html.
- 38.-** Peng, Y. H.; Yang, C. H.; Chen, K. T.; Popuri, S. R.; Lee, C. H.; Tang, B. S. Study on synthesis of ultrafine Cu–Ag core–shell powders with high electrical conductivity. *Applied Surface Science*, 2012, 263, 38-44.
- 39.-** Chen, Z.; Mochizuki, D.; Maitani, M. M.; Wada, Y. Facile synthesis of bimetallic Cu–Ag nanoparticles under microwave irradiation and their oxidation resistance. *Nanotechnology*, 2013, 24, 26, 265602.
- 40.-** Shackley, S. M. Steven. X-ray fluorescence spectrometry (XRF) in geoarchaeology. New York: Springer, 2011.
- 41.-** Instituto de Física UNAM. Análisis No Destructivo para el Estudio in situ del Arte, la Arqueología y la Historia. Fluorescencia de Rayos X portátil XRF (sistema SANDRA). Disponible en http://www.fisica.unam.mx/andreahtecnicas_equipos/xrf.html.
- 42.-** Butcher, D. J. X-Ray fluorescence spectrometry, Vol. 152 in Chemical analysis: a series of monographs on analytical chemistry and its applications: Ron Jenkins. John Wiley, 605 Third Avenue, New York, NY 10158, 1999; 207 pp., pp 53-62.
- 43.-** Amptek. X-Ray Fluorescence (XRF): Understanding Characteristic X-Rays. Disponible en: http://www.amptek.com/pdf/characteristic_xrays.pdf.
- 44.-** Beckhoff, B.; Kanngießer, B.; Langhoff, N.; Wedell, R.; Wolff, H. Handbook of practical X-ray fluorescence analysis. Springer Science & Business Media, 2007; pp 284-301.
- 45.-** Wikipedia. Fluorescencia de rayos X. Disponible en http://es.wikipedia.org/wiki/Fluorescencia_de_rayos_X.
- 46.-** Zhao, J.; Zhang, D.; Zhao, J. Fabrication of Cu–Ag core–shell bimetallic superfine powders by eco-friendly reagents and structures characterization. *Journal of Solid State Chemistry*, 2011, 184, 9, 2339-2344.

- 47.-** Zhou, W.; Wang, Z. L. Scanning microscopy for nanotechnology: techniques and applications. Springer, 2007; pp 9-21.
- 48.-** Wikipedia. Scanning electron microscope. Disponible en: <http://en.wikipedia.org/wiki/Scanning_electron_microscope>.
- 49.-** Stokes, D. Principles and practice of variable pressure: environmental scanning electron microscopy (VP-ESEM). John Wiley & Sons, 2008; pp 53.
- 50.-** De Graef, M. Introduction to conventional transmission electron microscopy. Cambridge University Press, 2003; pp 138-142.
- 51.-** University of Delaware. Course Introduction & Microscopic Techniques. Disponible en: <<http://www.udel.edu/biology/Wags/histopage/illuspage/lec1/lec1.htm>>.
- 52.-** Reimer, L.; Kohl, H. Transmission electron microscopy: physics of image formation. Springer, 2008; pp 3-5.
- 53.-** Tsuji, M.; Hikino, S.; Tanabe, R.; Yamaguchi, D. Synthesis of Ag@ Cu core-shell nanoparticles in high yield using a polyol method. *Chemistry Letters*, 2010, 39, 4, 334-336.
- 54.-** Schmitz, K. S. An introduction to dynamic light scattering of macromolecules.. Academic Press Inc: San Diego, CA (USA), 1990.
- 55.-** Berne, B. J.; Pecora, R. Dynamic light scattering: with applications to chemistry, biology, and physics. Courier Corporation, 2000.
- 56.-** Cursos de polímeros del grupo de polímeros y reactores de polimerización del INTEC (UNL-CONICET), Santa Fe, Argentina. Cap. A.6.b: Tamaños de partícula en coloides poliméricos. Disponible en <<http://www.gp.santafe-conicet.gov.ar/cursos/a/a.25.pdf>>.
- 57.-** Pecora, R. (Ed.). Dynamic light scattering: applications of photon correlation spectroscopy. Springer Science & Business Media, 2013.
- 58.-** Stuart, B. Infrared spectroscopy. John Wiley & Sons, Inc., 2005; pp 6-9.
- 59.-** Theophanides, T. Infrared Spectroscopy – Materials Science, Engineering and Technology. InTech, 2012; pp 2.
- 60.-** Siegfried, W. IR and Raman Spectroscopy: Fundamental Processing. *Wiley-Vch GmbH & Co. KGaA*, 2003; pp 30.

- 61.-** Hvoslef, J.; Klaeboe, P. Vibrational Spectroscopic Studies of L-Ascorbic Acid and Sodium Ascorbate. *Acta Chemica Scandinavica*, 1971, 25, 8, 3043-3053.
- 62.-** Magdassi, S.; Grouchko, M.; Kamysny, A. Copper nanoparticles for printed electronics: routes towards achieving oxidation stability. *Materials*, 2010, 3, 9, 4626-4638.
- 63.-** Azonano. Copper (Cu) Nanoparticles - Properties, Applications. Disponible en: <<http://www.azonano.com/article.aspx?ArticleID=3271>>.
- 64.-** Lisiecki, I., & Pileni, M. P. Copper metallic particles synthesized "in situ" in reverse micelles: influence of various parameters on the size of the particles. *The Journal of Physical Chemistry*, 1995, 99, 14, 5077-5082.
- 65.-** Ramyadevi, J.; Jeyasubramanian, K.; Marikani, A.; Rajakumar, G.; Rahuman, A. A.; Santhoshkumar, T.; Marimuthu, S. Copper nanoparticles synthesized by polyol process used to control hematophagous parasites. *Parasitology research*, 2011, 109, 5, 1403-1415.
- 66.-** Liu, Q. M.; Yasunami, T.; Kuruda, K.; Okido, M. Preparation of Cu nanoparticles with ascorbic acid by aqueous solution reduction method. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 2012, 22, 9, 2198-2203.
- 67.-** Kim, Y. H.; Kang, Y. S.; Lee, W. J.; Jo, B. G.; Jeong, J. H. Synthesis of Cu nanoparticles prepared by using thermal decomposition of Cu-oleate complex. *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, 2006, 445, 1, 231/[521]-238/[528].
- 68.-** Swarnkar, R. K.; Singh, S. C.; Gopal, R. Effect of aging on copper nanoparticles synthesized by pulsed laser ablation in water: structural and optical characterizations. *Bulletin of Materials Science*, 2011, 34, 7, 1363-1369.
- 69.-** Wang, G.; Wana, G.; Lin, S. A simple way of preparing nanocopper powders and its catalytic application to synthesize carbon nanofibers. *Journal of Ovonic Research Vol.* 2012, 8, 2, 41-45.
- 70.-** Stopić, S.; Friedrich, B.; Raić, K.; Volkov-Husović, T.; DIMITRIJEVIC, M. Characterization of nano-powder morphology obtained by ultrasonic spray pyrolysis. *Metallurgija*, 2008, 14, 1, 41-54.
- 71.-** Yang, X.; Chen, S.; Zhao, S.; Li, D.; Ma, H. Synthesis of copper nanorods using electrochemical methods. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 2003, 68, 11, 843-847.

- 72.-** Nishida, N.; Miyashita, A.; Hashimoto, N.; Murayama, H.; Tanaka, H. Regenerative synthesis of copper nanoparticles by photoirradiation. *The European Physical Journal D-Atomic, Molecular, Optical and Plasma Physics*, 2011, 63, 2, 307-310.
- 73.-** Galletti, A. M. R.; Antonetti, C.; Marracci, M.; Piccinelli, F.; Tellini, B. Novel microwave-synthesis of Cu nanoparticles in the absence of any stabilizing agent and their antibacterial and antistatic applications. *Applied Surface Science*, 2013, 280, 610-618.
- 74.-** Theivasanthi, T.; Alagar, M. X-ray diffraction studies of copper nanopowder. *Arch. Phy. Res.* 2010, 1, 2, 112-117.
- 75.-** Lee, Y.; Choi, J. R.; Lee, K. J.; Stott, N. E.; Kim, D. Large-scale synthesis of copper nanoparticles by chemically controlled reduction for applications of inkjet-printed electronics. *Nanotechnology*, 2008, 19, 41, 415604(1)-415604(7).
- 76.-** Sironmani, A.; Daniel, K. Silver nanoparticles—universal multifunctional nanoparticles for bio sensing, imaging for diagnostics and targeted drug delivery for therapeutic applications. Europe and China: In Tech, 2011; 463, pp 1-27.
- 77.-** Tran, Q. H.; Le, A. T. Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 2013, 4, 3, 033001(1)-033001(20).
- 78.-** Prabhu, S.; Poulouse, E. K. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International Nano Letters*, 2012, 2, 1, 1-10.
- 79.-** Lara, H. H.; Garza-Treviño, E. N.; Ixtapan-Turrent, L.; Singh, D. K. Silver nanoparticles are broad-spectrum bactericidal and virucidal compounds. *J. Nanobiotechnology*, 2011, 9, 1, 30(1)-30(8).
- 80.-** Zhang, Z.; Zhang, X.; Xin, Z.; Deng, M.; Wen, Y.; Song, Y. Synthesis of monodisperse silver nanoparticles for ink-jet printed flexible electronics. *Nanotechnology*, 2011, 22, 42, 425601(1)-425601(2).
- 81.-** Salehi-Khojin, A.; Jhong, H. R. M.; Rosen, B. A.; Zhu, W.; Ma, S.; Kenis, P. J.; Masel, R. I. Nanoparticle silver catalysts that show enhanced activity for carbon dioxide electrolysis. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2013, 117, 4, 1627-1632.

- 82.-** Lu, Y.; Liu, G. L.; Lee, L. P. High-density silver nanoparticle film with temperature-controllable interparticle spacing for a tunable surface enhanced Raman scattering substrate. *Nano letters*, 2005, 5, 1, 5-9.
- 83.-** Khalil, K. A.; Fouad, H.; Elsarnagawy, T.; Almajhdi, F. N. Preparation and characterization of electrospun PLGA/silver composite nanofibers for biomedical applications. *Int J Electrochem Sci*. 2013, 8, 3483-93.
- 84.-** Nuntawong, N.; Horprathum, M.; Eiamchai, P.; Wong-Ek, K.; Patthanasettakul, V.; Chindaudom, P. Surface-enhanced Raman scattering substrate of silver nanoparticles depositing on AAO template fabricated by magnetron sputtering. *Vacuum*, 2010, 84, 12, 1415-1418.
- 85.-** Pandey, S.; Goswami, G. K.; Nanda, K. K. Green synthesis of biopolymer–silver nanoparticle nanocomposite: An optical sensor for ammonia detection. *International journal of biological macromolecules*, 2012, 51, 4, 583-589.
- 86.-** Ngece, R. F.; West, N.; Ndangili, P. M.; Olowu, R. A.; Williams, A.; Hendricks, N.; Iwuoha, E. A silver nanoparticle/poly (8-anilino-1-naphthalene sulphonic acid) bioelectrochemical biosensor system for the analytical determination of ethambutol. *Int. J. Electrochem. Sc.* 2011, 6, 1820-1834.
- 87.-** Brown, P. K.; Qureshi, A. T.; Moll, A. N.; Hayes, D. J.; Monroe, W. T. Silver nanoscale antisense drug delivery system for photoactivated gene silencing. *ACS nano*, 2013, 7, 4, 2948-2959.
- 88.-** Safaepour, M.; Shahverdi, A. R.; Shahverdi, H. R.; Khorramizadeh, M. R.; Gohari, A. R. Green synthesis of small silver nanoparticles using geraniol and its cytotoxicity against fibrosarcoma-wehi 164. *Avicenna journal of medical biotechnology*, 2009, 1, 2, 111.
- 89.-** Herrera, G. M.; Padilla, A. C.; Hernandez-Rivera, S. P. Surface Enhanced Raman Scattering (SERS) Studies of Gold and Silver Nanoparticles Prepared by Laser Ablation. *Nanomaterials*, 2013, 3, 1, 158-172.
- 90.-** Babheydari, K.; Kiani, A.; Khaledi, M.; Mirmomtaz E. Synthesis of silver nanoparticles in the presence of PVP by thermal and sonochemical methods. *Trends in Advanced Science and Engineering*, 2012, 3, 2, 94-98.
- 91.-** Henglein, A. Colloidal silver nanoparticles: photochemical preparation and interaction with O₂, CCl₄, and some metal ions. *Chemistry of Materials*, 1998, 10, 1, 444-450.

- 92.-** Rao, Y. N.; Banerjee, D.; Datta, A.; Das, S. K.; Guin, R.; Saha, A. Gamma irradiation route to synthesis of highly re-dispersible natural polymer capped silver nanoparticles. *Radiation Physics and Chemistry*, 2010, 79, 12, 1240-1246.
- 93.-** Wang, B.; Zhuang, X.; Deng, W.; Cheng, B. Microwave-Assisted Synthesis of Silver Nanoparticles in Alkaline Carboxymethyl Chitosan Solution. *Engineering*, 2010, 2, 387-390.
- 94.-** Rodriguez-Sanchez, L.; Blanco, M. C.; Lopez-Quintela, M. A. Electrochemical synthesis of silver nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2000, vol. 104, 41, 9683-9688.
- 95.-** Xu, J.; Han, X.; Liu, H.; Hu, Y. Synthesis and optical properties of silver nanoparticles stabilized by gemini surfactant. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2006, 273, 1, 179-183.
- 96.-** Mahltig, B.; Gutmann, E.; Reibold, M.; Meyer, D. C.; Böttcher, H. Synthesis of Ag and Ag/SiO₂ sols by solvothermal method and their bactericidal activity. *Journal of sol-gel science and technology*, 2009, 51, 2, 204-214.
- 97.-** Dostelek, J.; Johas, U. Nanoengineered hydrogel template for synthesis of silver nanoparticles. *Advanced Engineering and Applied Sciences: An International Journal*, 2012, 1, 1, 5-10.
- 98.-** Navaladian, S.; Viswanathan, B.; Viswanath, R. P.; Varadarajan, T. K. Thermal decomposition as route for silver nanoparticles. *Nanoscale research letters*, 2007, 2, 1, 44-48.
- 99.-** Shameli, K.; Bin Ahmad, M.; Jaffar Al-Mulla, E. A.; Ibrahim, N. A.; Shabanzadeh, P.; Rustaiyan, A.; Zidan, M. Green biosynthesis of silver nanoparticles using *Callicarpa maingayi* stem bark extraction. *Molecules*, 2012, 17, 7, 8506-8517.
- 100.-** Shivakrishna, P.; Krishna, M. R. P. G.; Charya, M. S. Synthesis of Silver Nano Particles from Marine Bacteria *Pseudomonas aerogenosa*. *Octa. J. Biosci.* 2013, 1, 2, 108-114.
- 101.-** Rivera, P.; Medina, E.; Torres, E. J. F. Synthesis and characterization of silver nanoparticles for biosensors design. En Abstracts of Papers of the American Chemical Society (Vol. 243), 1155 16th St, Nw, Washington, DC 20036 USA: Amer Chemical Soc, 2012.

- 102.-** Lanje, A. S.; Sharma, S. J.; Pode, R. B. Synthesis of silver nanoparticles: a safer alternative to conventional antimicrobial and antibacterial agents. *J Chem Pharm Res.* 2010, 2, 3, 478-483.
- 103.-** Sacarescu, L.; Simionescu, M.; Sacarescu, G.; Hitruc, E. G. Photocatalytic synthesis of silver nanoparticles using polysilane initiator. *Journal of Nanoparticle Research*, 2011, 13, 3, 997-1005.
- 104.-** Li, W.; Sun, C.; Hou, B.; Zhou, X. Room temperature synthesis and catalytic properties of surfactant-modified Ag nanoparticles. *International Journal of Spectroscopy*, 2012, 2012, 1-8.
- 105.-** Kalele, S.; Gosavi, S. W.; Urban, J.; Kulkarni, S. K. Nanoshell particles: synthesis, properties and applications. *Current Science*, 2006, 91, 8, 1038-1052
- 106.-** Wei, S.; Wang, Q.; Zhu, J.; Sun, L.; Lin, H.; Guo, Z. Multifunctional composite core-shell nanoparticles. *Nanoscale*, 2011, 3, 11, 4474-4502.
- 107.-** Brenner, A., & Riddell, G. E. Nickel Plating on Steel by Chemical Reduction. *J. Res. Natl. Bur. Std.* 1946, 37, 1, 31-34.
- 108.-** Porter, L. A.; Choi, H. C.; Ribbe, A. E.; Buriak, J. M. Controlled electroless deposition of noble metal nanoparticle films on germanium surfaces. *Nano Letters*, 2002, 2, 10, 1067-1071.
- 109.-** Zhou, K.; Hu, M. Preparation of core-shell Cu-Ag bimetallic powder via electroless coating. *Journal of Wuhan University of Technology-Mater, Sci. Ed.* 2009, 24, 4, 637-639
- 110.-** Tan, K. S.; Cheong, K. Y. Advances of Ag, Cu, and Ag-Cu alloy nanoparticles synthesized via chemical reduction route. *Journal of nanoparticle research*, 2013, 15, 4, 1-29.
- 111.-** Xu, X.; Luo, X.; Zhuang, H.; Li, W.; Zhang, B. Electroless silver coating on fine copper powder and its effects on oxidation resistance. *Materials Letters*, 2003, 57, 24, 3987-3991.
- 112.-** Tsai, C. H.; Chen, S. Y.; Song, J. M.; Chen, I. G.; Lee, H. Y. Thermal stability of Cu@Ag core-shell nanoparticles. *Corrosion Science*, 2013, 74, 123-129.
- 113.-** Rahman, L. U.; Qureshi, R.; Yasinzaï, M. M.; Shah, A. Synthesis and spectroscopic characterization of Ag-Cu alloy nanoparticles prepared in various ratios. *Comptes Rendus Chimie*, 2012, 15, 6, 533-538.

- 114.-** Kim, C. K.; Lee, G. J.; Lee, M. K.; Rhee, C. K. A novel method to prepare Cu@Ag core-shell nanoparticles for printed flexible electronics. *Powder Technology*, 2014, 263, 1-6.
- 115.-** Subhankari, I.; Nayak, P. L. Antimicrobial Activity of Copper Nanoparticles Synthesised by Ginger (*Zingiber officinale*) Extract. *World J Nano Sci Technol*, 2013, 2, 1, 10-13.
- 116.-** Grouchko, M.; Kamyshny, A.; Ben-Ami, K.; Magdassi, S. Synthesis of copper nanoparticles catalyzed by pre-formed silver nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*, 2009, 11, 3, 713-716.
- 117.-** Pucek, R.; Kvítek, L.; Panáček, A.; Vančurová, L.; Soukupová, J.; Jančík, D.; Zbořil, R. Polyacrylate-assisted synthesis of stable copper nanoparticles and copper (I) oxide nanocubes with high catalytic efficiency. *Journal of Materials Chemistry*, 2009, 19, 44, 8463-8469.
- 118.-** Meshesha, B. T.; Barrabés, N.; Medina, F.; Sueiras, J. E. Polyol mediated synthesis & characterization of Cu nanoparticles: effect of 1-hexadecylamine as stabilizing agent. En *Proceedings of the 1st WSEAS international conference on Nanotechnology*. World Scientific and Engineering Academy and Society (WSEAS), 2009; pp 87-91.
- 119.-** Garg, J.; Poudel, B.; Chiesa, M.; Gordon, J. B.; Ma, J. J.; Wang, J. B.; Chen, G. Enhanced thermal conductivity and viscosity of copper nanoparticles in ethylene glycol nanofluid. *Journal of Applied Physics*, 2008, 103, 7, 074301(1)-074301(2).
- 120.-** Usman, M. S.; Ibrahim, N. A.; Shameli, K.; Zainuddin, N.; Yunus, W. M. Z. W. Copper nanoparticles mediated by chitosan: synthesis and characterization via chemical methods. *Molecules*, 2012, 17, 12, 14928-14936.
- 121.-** Jin, M.; He, G.; Zhang, H.; Zeng, J.; Xie, Z.; Xia, Y. Shape-Controlled Synthesis of Copper Nanocrystals in an Aqueous Solution with Glucose as a Reducing Agent and Hexadecylamine as a Capping Agent. *Angewandte Chemie International Edition*, 2011, 50, 45, 10560-10564.
- 122.-** Chen, S.; Sommers, J. M. Alkanethiolate-protected copper nanoparticles: spectroscopy, electrochemistry, and solid-state morphological evolution. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2001, 105, 37, 8816-8820.
- 123.-** Prema, P.; Selvarani, M. Evaluation of Antibacterial Efficacy of Chemically Synthesized Copper and Zerovalent Iron Nanoparticles. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 2013, 6, 3, 223-227.

- 124.-** Jana, N. R.; Wang, Z. L.; Sau, T. K.; Pal, T. Seed-mediated growth method to prepare cubic copper nanoparticles. *Current Science-Bangalore*, 2000, 79, 9, 1367-1369.
- 125.-** Chattopadhyay, D. P.; Patel, B. H. Preparation, characterization and stabilization of nano sized copper particles. *Int. J. Pure Appl. Sci. Technol.* 2012, 9, 1, 1-8.
- 126.-** Feng Z. V.; Lyon J. L.; Croley J. S.; Crooks R. M.; Vanden Bout D. A.; Stevenson K. J. Synthesis and Catalytic Evaluation of Dendrimer-Encapsulated Cu Nanoparticles. *Journal of Chemical Education*, 2009, 86, 3, 368.
- 127.-** Samim, M.; Kaushik, N. K.; Maitra, A. Effect of size of copper nanoparticles on its catalytic behaviour in Ullman reaction. *Bulletin of Materials Science*, 2007, 30, 5, 535-540.
- 128.-** Zhang, Q. L.; Yang, Z. M.; Ding, B. J.; Lan, X. Z.; Guo, Y. J. Preparation of copper nanoparticles by chemical reduction method using potassium borohydride. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 2010, 20, s240-s244.
- 129.-** Zhang, H. X.; Siegert, U.; Liu, R.; Cai, W. B. Facile fabrication of ultrafine copper nanoparticles in organic solvent. *Nanoscale research letters*, 2009, 4, 7, 705-708.
- 130.-** Stepanov, A. L.; Khaibullin, R. I.; Can, N.; Ganeev, R. A.; Rysanyansky, A. I.; Buchal, C.; Uysal, S. Application of ion implantation for synthesis of copper nanoparticles in a zinc oxide matrix for obtaining new nonlinear optical materials. *Technical physics letters*, 2004, 30, 10, 846-849.
- 131.-** Theivasanthi, T.; Alagar, M. Studies of Copper Nanoparticles Effects on Micro-organisms. *Annals of Biological Research*, 2011, 2, 3, 368-373.
- 132.-** Hashemipour, H.; Zadeh, M. E.; Pourakbari, R.; Rahimi, P. Investigation on synthesis and size control of copper nanoparticle via electrochemical and chemical reduction method. *International Journal of Physical Sciences*, 2011, 6, 18, 4331-4336.
- 133.-** Sharifirad, M. Electro Oxidation of Methanol on Copper Nanoparticles Supported Poly (O- Amino Phenol) Nanotubes. *Iranica J. Energy & Environ*, 2012, 3, 1, 46-51.

- 134.-** Xu, Q.; Zhao, Y.; Xu, J. Z.; Zhu, J. J. Preparation of functionalized copper nanoparticles and fabrication of a glucose sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2006, 114, 1, 379-386.
- 135.-** Phong, N. T. P.; Khuong, V. Q.; Tho, T. D.; Van Du, C.; Minh, N. H. Green Synthesis of Copper Nanoparticles Colloidal Solutions and Used as Pink Disease Treatment Drug for Rubber Tree. En: IWNA 2011, Noviembre, 2011.
- 136.-** Dar, M. I.; Sampath, S.; Shivashankar, S. A. Microwave-assisted, surfactant-free synthesis of air-stable copper nanostructures and their SERS study. *Journal of Materials Chemistry*, 2012, 22, 42, 22418-22423.
- 137.-** Yallappa, S.; Manjanna, J.; Sindhe, M. A.; Satyanarayan, N. D.; Pramod, S. N.; Nagaraja, K. Microwave assisted rapid synthesis and biological evaluation of stable copper nanoparticles using T. arjuna bark extract. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2013, 110, 108-115.
- 138.-** Baco-Carles, V.; Datas, L.; Tailhades, P. Copper Nanoparticles Prepared from Oxalic Precursors. *ISRN Nanotechnology*, 2011, 1-7.
- 139.-** Betancourt-Galindo, R.; Reyes-Rodriguez, P. Y.; Puente-Urbina, B. A.; Avila-Orta, C. A.; Rodríguez-Fernández, O. S.; Cadenas-Pliego, G.; García-Cerda, L. A. Synthesis of copper nanoparticles by thermal decomposition and their antimicrobial properties. *Journal of Nanomaterials*, 2014, 10.
- 140.-** Subhankari, I.; Nayak, P. L. Synthesis of Copper Nanoparticles Using Syzygium aromaticum (Cloves) Aqueous Extract by Using Green Chemistry. *World*, 2013, 2, 1, 14-17.
- 141.-** Firkowska, I.; Boden, A.; Vogt, A. M.; Reich, S. Effect of carbon nanotube surface modification on thermal properties of copper–CNT composites. *Journal of Materials Chemistry*, 2011, 21, 43, 17541-17546.
- 142.-** Liu, A.; Bac, L. H.; Kim, J. S.; Kim, B. K.; Kim, J. C. Synthesis and Characterization of Conducting Polyaniline-Copper Composites. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 2013, 13, 11, 7728-7733.
- 143.-** Kao, C. Y.; Tsai, Y. R.; Chou, K. S. Synthesis and characterization of the iron/copper composite as an electrode material for the rechargeable alkaline battery. *Journal of Power Sources*, 2011, 196, 13, 5746-5750.
- 144.-** Sharifirad, M.; Omrani, A.; Rostami, A. A.; Koohyar, F. Synthesis of nano-composite poly (4-4-diamino diphenyl sulfon) with various metals. *Materiali in tehnologije*, 2012, 46, 6, 643-647.

- 145.-** Stojkovska, J.; Zvicer, J.; Jovanović, Ž.; Mišković-Stanković, V.; Obradović, B. Controlled production of alginate nanocomposites with incorporated silver nanoparticles aimed for biomedical applications. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 2012, 77, 12, 1709-1722.
- 146.-** Król-Gracz, A.; Nowak, P.; Michalak, E.; Dyonizy, A. Hydroquinone Synthesis of Silver Nanoparticles from Silver Bromide Suspensions. *Acta Physica Polonica-Series A General Physics*, 2012, 121, 1, 196-199.
- 147.-** Biswal, J.; Misra, N.; Borde, L. C.; Sabharwal, S. Synthesis of silver nanoparticles in methacrylic acid solution by gamma radiolysis and their application for estimation of dopamine at low concentrations. *Radiation Physics and Chemistry*, 2013, 83, 67-73.
- 148.-** Baruah, B.; Gabriel, G. J.; Akbashev, M. J.; Booher, M. E. Facile Synthesis of Silver Nanoparticles Stabilized by Cationic Polynorbornenes and Their Catalytic Activity in 4-Nitrophenol Reduction. *Langmuir*, 2013, 29, 13, 4225-4234.
- 149.-** Van Dong, P.; Ha, C. H.; Kasbohm, J. Chemical synthesis and antibacterial activity of novel-shaped silver nanoparticles. *International Nano Letters*, 2012, 2, 1, 1-9.
- 150.-** Wani, I. A.; Ganguly, A.; Ahmed, J.; Ahmad, T. Silver nanoparticles: ultrasonic wave assisted synthesis, optical characterization and surface area studies. *Materials Letters*, 2011, 65, 3, 520-522
- 151.-** Tsai, T. H.; Thiagarajan, S.; Chen, S. M. Green synthesis of silver nanoparticles using ionic liquid and application for the detection of dissolved oxygen. *Electroanalysis*, 2010, 22, 6, 680-687.
- 152.-** Blandón, L.; Vázquez, M. V.; Benjumeab, D. M.; Cirob, G. Electrochemical Synthesis of Silver Nanoparticles and their Potential Use as Antimicrobial Agent: a Case Study on Escherichia Coli. *Portugaliae Electrochimica Acta*, 2012, 30, 2, 135-144.
- 153.-** Lee, C. J.; Karim, M. R.; Vasudevan, T.; Kim, H. J.; Raushan, K.; Jung, M. J.; Lee, M. S. A comparison method of silver nanoparticles prepared by the gamma irradiation and in situ reduction methods. *Bulletin of the Korean Chemistry Society*, 2010, 31, 7, 1993-1996.
- 154.-** Hettiarachchi, M. A.; Wickramarachchi, P. A. S. R. Synthesis of chitosan stabilized silver nanoparticles using gamma ray irradiation and characterization. *J Sci. Univ. Kelaniya*, 2011, 6, 65-75.

- 155.-** Yunus, W. M. Z. W.; Ibrahim, N. A. Synthesis and characterization of silver/clay nanocomposites by chemical reduction method. *American Journal of Applied Sciences*, 2009, 6, 11, 1909-1914.
- 156.-** Sato, M.; Nikaido, T.; Oki, A.; Furusawa, T.; Suzuki, N. Preparation of Silver Nanoparticles Dispersions by Microwave-assisted Polyol Synthesis and Their Application in Inkjet Electric Circuit Printing. En: The 13th Asia Pacific Confederation of Chemical Engineering Congress, 2010.
- 157.-** Mănoiu, V. S.; Aloman, A. Obtaining silver nanoparticles by sonochemical methods. *UPB Buletin Stiintific. Series B*, 2010, 72, 2, 179-186.
- 158.-** He, C., Liu, L.; Fang, Z.; Li, J.; Guo, J.; Wei, J. Formation and characterization of silver nanoparticles in aqueous solution via ultrasonic irradiation. *Ultrasonics sonochemistry*, 2014, 21, 2, 542-548.
- 159.-** Ramajo, L.; Parra, R.; Reboredo, M.; Castro, M. Preparation of amine coated silver nanoparticles using triethylenetetramine. *Journal of chemical sciences*, 2009, 121, 1, 83-87.
- 160.-** Kumar, H.; Rani, R. Structural Characterization of Silver Nanoparticles Synthesized by Micro emulsion Route. *Int J Engg Inno Technol*, 2013, 3, 344-348.
- 161.-** Reyes, P. Y.; Espinoza; J. A.; Treviño, M. E.; Saade, H.; López, R. G. Synthesis of silver nanoparticles by precipitation in bicontinuous microemulsions. *Journal of Nanomaterials*, 2010, 2010, 53.
- 162.-** Ratyakshi; Chauhan, R. P. Colloidal synthesis of silver nano particles. *Asian Journal of Chemistry*, 2009, 21, 10, 113-116.
- 163.-** Steinigeweg, D., & Schlücker, S. Monodispersity and size control in the synthesis of 20–100 nm quasi-spherical silver nanoparticles by citrate and ascorbic acid reduction in glycerol–water mixtures. *Chemical Communications*, 2012, 48, 69, 8682-8684.
- 164.-** Darroudi, M.; Ahmad, M. B.; Abdullah, A. H.; Ibrahim, N. A.; Shameli, K. Effect of accelerator in green synthesis of silver nanoparticles. *International journal of molecular sciences*, 2010, 11, 10, 3898-3905.
- 165.-** Hsu, S. L. C.; Wu, R. T. Preparation of Silver Nanoparticle with Different Particle Sizes for Low-Temperature Sintering. En *International conference on nanotechnology biosensors. IACSIT Press: Hong Kong*, 2010; p. 55-58.

166.- Malarkodi, C.; Rajeshkumar, S.; Paulkumar, K.; Gnanajobitha, G.; Vanaja, M.; Annadurai, G. Bacterial synthesis of silver nanoparticles by using optimized biomass growth of *Bacillus* sp. *Nanosci. Nanotechnol: Inter. J.* 2013, 3, 2, 26-32.

167.- San, C. Y.; Don, M. M.; Kang, L. J.; Mohamed, A. R. Comparative studies on the synthesis of silver nanoparticles by '*Pycnopus sanguineus*' in shake flasks and stirred tank reactor. *En Chemeca*, 2013, 41st, Brisbane, Qld.

168.- Honary, S.; Barabadi, H.; Gharaei-Fathabad, E.; Naghibi, F. Green synthesis of silver nanoparticles induced by the fungus *Penicillium citrinum*. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2013, 12, 1, 7-11.

169.- Naik, L. S.; Marx, K. P.; Sree Vennela, P.; Devi, C. V. R. Green synthesis of silver nanoparticles using Strawberry leaf extract (*Arbutus unedo*) and evaluation of its antimicrobial activity-a Novel study. *International Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 2013, 3, 3, 47-50.

170.- Ponarulselvam, S.; Panneerselvam, C.; Murugan, K.; Aarthi, N.; Kalimuthu, K.; Thangamani, S. Synthesis of silver nanoparticles using leaves of *Catharanthus roseus* Linn. G. Don and their antiplasmodial activities. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 2012, 2, 7, 574-580.

171.- Supraja, S.; Mohammed Ali, S.; Chakravarthy, N.; Jayaprakash Priya, A.; Sagadevan, E.; Kasinathan, M. K.; Arumugam, P. Green synthesis of silver nanoparticles from *Cynodon dactylon* leaf extract. *Int. J. Chem. Tech.* 2013, 5, 1, 271-277.

172.- Soon, A.; Todorova, M.; Delley, B.; Stampfl, C. Surface oxides of the oxygen–copper system: Precursors to the bulk oxide phase? *Surface Science*, 2007, 601, 24, 5809-5813.

173.- Li, J.; Liu, C. Y. Carbon-coated copper nanoparticles: synthesis, characterization and optical properties. *New Journal of Chemistry*, 2009, 33, 7, 1474-1477.

174.- Luechinger, N. A.; Athanassiou, E. K.; Stark, W. J. Graphene-stabilized copper nanoparticles as an air-stable substitute for silver and gold in low-cost ink-jet printable electronics. *Nanotechnology*, 2008, 19, 44, 445201.

175.- Ang, T. P.; Wee, T. S. A.; Chin, W. S. Three-dimensional self-assembled monolayer (3D SAM) of n-alkanethiols on copper nanoclusters. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2004, 108, 30, 11001-11010.

- 176.-** Kobayashi, Y.; Ishida, S.; Ihara, K.; Yasuda, Y.; Morita, T.; Yamada, S. Synthesis of metallic copper nanoparticles coated with polypyrrole. *Colloid and Polymer Science*, 2009, 287, 7, 877-880.
- 177.-** Pulkkinen, P.; Shan, J.; Leppänen, K.; Käsäkoski, A.; Laiho, A.; Järn, M.; Tenhu, H. Poly (ethylene imine) and tetraethylenepentamine as protecting agents for metallic copper nanoparticles. *ACS applied materials & interfaces*, 2009, 1, 2, 519-525.
- 178.-** Kobayashi, Y.; Sakuraba, T. Silica-coating of metallic copper nanoparticles in aqueous solution. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2008, 317, 1, 756-759.
- 179.-** Calderon, H.; Bao, Y.; Wen, T.; Krishnan, K. Characterization of Core Shell Cu-Au Nanoparticles by Microscopy Techniques. *Microscopy and Microanalysis*, 2011, 17, S2, 1836-1837.
- 180.-** Larios, E.; Molina, Z.; Maldonado, A.; Tanori, J. Synthesis and Characterization of Bimetallic Copper-Gold Nanoparticles. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 2012, 33, 5, 719-723.
- 181.-** Yamauchi, T.; Tsukahara, Y.; Sakata, T.; Mori, H.; Yanagida, T.; Kawai, T.; Wada, Y. Magnetic Cu–Ni (core–shell) nanoparticles in a one-pot reaction under microwave irradiation. *Nanoscale*, 2010, 2, 4, 515-523.
- 182.-** Wei, Z. D.; Feng, Y. C.; Li, L.; Liao, M. J.; Fu, Y.; Sun, C. X.; Shen, P. K. Electrochemically synthesized Cu/Pt core-shell catalysts on a porous carbon electrode for polymer electrolyte membrane fuel cells. *Journal of Power Sources*, 2008, 180, 1, 84-91.
- 183.-** Schmid, G.; West, H.; Malm, J. O.; Bovin, J. O.; Grenthe, C. Catalytic properties of layered gold–palladium colloids. *Chemistry-A European Journal*, 1996, 2, 9, 1099-1103.
- 184.-** Liz-Marzan, L. M.; Philipse, A. P. Stable hydrosols of metallic and bimetallic nanoparticles immobilized on imogolite fibers. *The Journal of Physical Chemistry*, 1995, 99, 41, 15120-15128.
- 185.-** Michaelis, M.; Henglein, A.; Mulvaney, P. Composite Pd-Ag particles in aqueous solution. *The Journal of Physical Chemistry*, 1994, 98, 24, 6212-6215.
- 186.-** Torigoe, K.; Nakajima, Y.; Esumi, K. Preparation and characterization of colloidal silver-platinum alloys. *The Journal of Physical Chemistry*, 1993, 97, 31, 8304-8309.

- 187.-** Cazayous, M.; Langlois, C.; Oikawa, T.; Ricolleau, C.; Sacuto, A. Cu-Ag core-shell nanoparticles: A direct correlation between micro-Raman and electron microscopy. *Physical Review B*, 2006, 73, 11, 113402(1)-113402(2).
- 188.-** Liu, M.; Guyot-Sionnest, P. Synthesis and optical characterization of Au/Ag core/shell nanorods. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2004, 108, 19, 5882-5888.
- 189.-** Bhagathsingh, W.; Nesaraj, A. S. Low temperature synthesis and thermal properties of Ag–Cu alloy nanoparticles. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 2013, 23, 1, 128-133.
- 190.-** Kytsya, A. R.; Bazylyak, L. I.; Hrynda, Y. M.; Vynar, V. A.; Korniy, S. A. Preparation of Silver-Copper Core-Shell Nanoparticles as Anti-Wear Oil Additive. En la conferencia internacional: Nanomateriales: Aplicaciones y Propiedades, 2013; 2, 2, pp 02PCN22(1)-02PCN22(3).
- 191.-** Byeon, J. H.; Kim, Y. W. Aerosol copper initiated core–shell nanoparticle synthesis and micropatterning. *New Journal of Chemistry*, 2012, 36, 11, 2184-2187.
- 192.-** Langlois, C.; Alloyeau, D.; Le Bouar, Y.; Loiseau, A.; Oikawa, T.; Mottet, C.; Ricolleau, C. Growth and structural properties of CuAg and CoPt bimetallic nanoparticles. *Faraday discussions*, 2008, 138, 375-391.
- 193.-** Tsuji, M.; Hikino, S.; Sano, Y.; Horigome, M. Preparation of Cu@ Ag Core-Shell Nanoparticles Using a Two-step Polyol Process under Bubbling of N₂ Gas. *Chemistry Letters*, 2009, 38, 6, 518-519.
- 194.-** Gao, J.; Guo, Z.; Su, F.; Gao, L.; Pang, X.; Cao, W.; Wei, Q. Ultrasensitive electrochemical immunoassay for CEA through host–guest interaction of β -cyclodextrin functionalized graphene and Cu@ Ag core–shell nanoparticles with adamantine-modified antibody. *Biosensors and Bioelectronics*, 2015, 63, 465-471.
- 195.-** Giorgetti, E.; Marsili, P.; Canton, P.; Muniz-Miranda, M.; Caporali, S.; Giammanco, F. Cu/Ag-based bifunctional nanoparticles obtained by one-pot laser-assisted galvanic replacement. *Journal of nanoparticle research*, 2013, 15, 1, 1-12.
- 196.-** Mancier, V.; Rousse-Bertrand, C.; Dille, J.; Michel, J.; Fricoteaux, P. Sono and electrochemical synthesis and characterization of copper core–silver shell nanoparticles. *Ultrasonics sonochemistry*, 2010, 17, 4, 690-696.

- 197.-** Muzikansky, A.; Nanikashvili, P.; Grinblat, J.; Zitoun, D. Ag Dewetting in Cu@Ag Monodisperse Core–Shell Nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2013, 117, 6, 3093-3100.
- 198.-** Chen, K. T.; Ray, D.; Peng, Y. H.; Hsu, Y. C. Preparation of Cu–Ag core–shell particles with their anti-oxidation and antibacterial properties. *Current Applied Physics*, 2013, 13, 7, 1496-1501.
- 199.-** Shim, I. K.; Oh, Y. S.; Joung, J. W. Core-shell structure metal nanoparticles and its manufacturing method. Estados Unidos, patente de aplicación US20070212562A1, 13 de setiembre del 2007.
- 200.-** Magdassi, Shlomo; Grouchko, Michael ; Kamyshny, Alexander. Core-shell metallic nanoparticles, methods of production thereof, and ink compositions containing same. Estados Unidos, patente de aplicación US20110183128A1. 28 de julio del 2011.
- 201.-** Agrawal, Anoop; Cronin, John P. Metal coatings, conductive nanoparticles and applications of the same. Estados Unidos, patente US8130438B2, 6 de marzo del 2012.
- 202.-** Chopra, Naveen; Wu, Yiliang; Kazmaier, Peter M. Bimetallic nanoparticles for conductive ink applications. Patente Europea de aplicación EP2114114A1, 4 de noviembre del 2009.
- 203.-** Chretien, Michelle; Wu, Yiliang; Chopra, Naveen. Photochemical synthesis of bimetallic core-shell nanoparticles. Patente Europea de aplicación EP2130627A1, 9 de diciembre del 2009.
- 204.-** Lopez, Manuel A. L. Conductive inks obtained by combining AQCS and metal nanoparticles. Estados Unidos, patente de aplicación US20120315495A1, 13 de diciembre del 2012.
- 205.-** American Elements. Silver-Copper Alloy Nanopowder. Dirección URL: <<http://www.americanelements.com/agcunp.html>>.
- 206.-** Sigma Aldrich. Silver-Copper Alloy. Dirección URL: <<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/576824?lang=en®ion=PE>>.
- 207.-** mkNANO. Silver-Copper Alloy Nanopowder. Dirección URL: <<http://www.mknano.com/Nanoparticles/Alloys/Silver-Copper-Alloy-Nanopowder/Ag-Cu-973-90nm.asp>>.

- 208.-** Nanoshell. Alloy Nanopowder. Dirección URL: <<http://www.nanoshel.in/alloy-nanopowder.html>>.
- 209.-** nGimat. Metal and metal alloy nanopowders. Dirección URL: <<http://ngimatllc.com/products/#MMAN>>.
- 210.-** Industrial Powder. Silver coated copper. Dirección URL: <<http://industrialpowder.com/index.php?c=121&p=160>>.
- 211.-** Potters. CONDUCT-O-FIL® Silver-Coated Copper Particles. Dirección URL: <<http://www.pottersbeads.com/egm/NorthAmerica/Products/ConductiveParticles/SilverCoatedCopperParticles.aspx>>.
- 212.-** Ferro. Silver Coated Copper. Dirección URL: <<http://www.ferro.com/Our+Products/PigmentsPowdersOxides/Metal+Powder+and+Flake+Products/Silver+Coated+Copper.htm>>.
- 213.-** Suzhou Canfuo Nanotechnology Co. LTD. Nanomaterials and copper products specialized team. Dirección URL: <<http://www.canfuo.com/Products.html>>.
- 214.-** Wikipedia. Concentración inhibitoria mínima. Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Concentraci%C3%B3n_inhibitoria_m%C3%ADnima>.
- 215.-** National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twelve informational supplement M102-S12. Wayne, Pennsylvania: NCCLS, 2002.
- 216.-** Palavecino E. Recomendaciones del National Committee for Clinical Laboratory Standards para el estudio de susceptibilidad en microorganismos fastidiosos y en microorganismos que presentan mecanismos de resistencia difíciles de detectar. *Rev Chil Infect*, 2002, 19, 2, 129-134.
- 217.-** Horna Quintana, G.; Silva Díaz, M.; Vicente Taboada, W.; Tamariz Ortiz, J. . Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de ciprofloxacina en bacterias uropatógenas aisladas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. *Rev. Med. Hered.* 2005, 16, 1, 39-45.
- 218.-** Scaffardi, L. B.; Schinca, D. C.; Lester, M.; Videla, F. A.; Santillán, J. M.; Ekeröth, R. M. A. En UV-VIS and Photoluminescence Spectroscopy for Nanomaterials Characterization. Springer: Berlin Heidelberg, 2013; pp 179-229.
- 219.-** Paramelle, D.; Sadovoy, A.; Gorelik, S.; Free, P.; Hobley, J.; Fernig, D. G. A rapid method to estimate the concentration of citrate capped silver nanoparticles from UV-visible light spectra. *Analyst*, 2014, 139, 19, 4855-4861.

220.- Millstone, J. E., Hurst, S. J.; Métraux, G. S.; Cutler, J. I.; Mirkin, C. A. Colloidal gold and silver triangular nanoprisms. *Small*, 2009, 5, 6, 646-664.

221.- Shriver, Duward F., Drezdson, Mark A. The manipulation of air sensitive compounds. 2da ed.; Wiley-Interscience: Estados Unidos, 1986; p. 326.

222.- ChemistryViews. Tips and Tricks for the Lab: Air-Sensitive Techniques (1). Disponible en: http://www.chemistryviews.org/details/education/3728881/Tips_and_Tricks_for_the_Lab_Air-Sensitive_Techniques_1.html >

XIV. ANEXO

III.5 TECNICAS SCHLENK

Un compuesto es clasificado como sensible al aire si reacciona con O_2 , agua, N_2 o CO_2 . Así, compuestos encontrados en la química organometálica son sensibles a la humedad y/o al oxígeno. Del mismo modo, algunas síntesis orgánicas e inorgánicas requieren reactivos volátiles pirofóricos. Este tipo de materiales deben ser aislados del medio ambiente y ser manipulados en una atmosfera controlada. Para ello, normalmente se suele usar una atmosfera de nitrógeno o argón. Sin embargo, como el argón es más caro que el nitrógeno, se suele usar más a este último, a menos que el o los compuestos en estudio reaccionen con el nitrógeno.

Compuestos pirofóricos		Compuestos que reaccionan violentamente con agua	
Alquilos y ariolos metálicos	RMgX, RLi, RNa, R_3Al , R_2Zn	Hidruros metálicos	NaH, KH, $LiAlH_4$
Carbonilos metálicos	$Ni(CO)_4$, $Fe(CO)_5$, $Co_2(CO)_8$	Amidas metálicas	$NaNH_2$
Metales alcalinos	Na, K, Cs	Alquilos y ariolos metálicos	RMgX, RLi, RNa, R_3Al , R_2Zn
Polvos metálicos	Al, Co, Fe, Mg, Pd, Pt, Zn	Metales y polvos metálicos	Al, Co, Fe, Mg, Pd, Pt, Zn
Hidruros metálicos	NaH, KH, $LiAlH_4$	Haluros del grupo principal	BCl_3 , BF_3 , $AlCl_3$, PCl_3 , $SiCl_3$
Hidruros	B_2H_6 , PH_3 , AsH_3	Haluros de ácidos inorgánicos	$POCl_3$, $SOCl_3$
Boranos, Fosfinas, arseniuros	R_3B , R_3P , R_3As	Haluros de ácidos orgánicos de bajo peso molecular y anhídridos	

Tabla 9. Ejemplos de compuestos que se oxidan, descomponen o explotan en presencia de oxígeno y humedad

Una línea Schlenk (también llamada línea múltiple de gas y vacío) es un aparato de vidrio de uso común en los laboratorios de química, desarrollado por Wilhelm Schlenk. Se trata de una tubería doble de vidrio, con varios puertos, a partir de los cuales se puede dispensar gases o hacer vacío. Los sistemas Schlenk son ideales

para el aislamiento y manipulación de materiales sensibles al aire. Su diseño es simple y son fáciles de usar. Si se combina esto con cristalería especialmente adaptada con juntas Quick-Fit estandarizadas, se obtiene un sistema altamente modular y flexible que permite una gran variedad de montajes experimentales.

Las líneas Schlenk son útiles para la manipulación segura de compuestos sensibles al aire. El alto vacío también se utiliza a menudo para eliminar los últimos restos de disolvente de una muestra. Los distribuidores de vacío/gas a menudo tienen muchos puertos y líneas, y con cuidado, es posible ejecutar simultáneamente varias reacciones u operaciones.

Cuando los reactivos son altamente susceptibles a la oxidación, unas trazas de oxígeno pueden suponer un problema. Entonces, para la eliminación de oxígeno por debajo del nivel de ppm, el gas inerte tiene que ser purificado por lo que pasa a través de un catalizador de desoxigenación. Esto es generalmente una columna de óxido de cobre (I) o de óxido de manganeso (II) que reacciona con las huellas residuales de oxígeno presentes en el gas inerte.

III.5.1 Diseño básico de una línea Schlenk y el material de vidrio usado

Las líneas Schlenk, en su forma más básica, constan de dos tubos conectados entre sí (distribuidor dual) por llaves de doble paso (Fig. 1). Uno de los tubos está conectado a una fuente de gas inerte (colector de gas), purificado, mientras que el otro tubo está conectado a una bomba de vacío (colector de vacío) [221]. La línea de gas inerte se ventila a través de un burbujeador de aceite o silicona, mientras que los vapores de disolvente y los productos gaseosos de las reacciones se condensan para que no contaminen la bomba de vacío mediante una trampa fría de nitrógeno líquido o de hielo seco/acetona. Las llaves de doble paso o grifos de teflón permiten seleccionar trabajar al vacío o en atmósfera de gas inerte, sin necesidad de colocar la muestra en una línea independiente. Una línea Schlenk normalmente tiene 4-6 grifos para realizar múltiples reacciones simultáneamente.

Estos sistemas se utilizan generalmente para reacciones en solución, ya que se prestan bien a las técnicas de cánula y contracorriente [221]. Las reacciones que

implican la medición o la condensación de los gases se realizan generalmente en líneas de alto vacío, las cuales se diferencian de las líneas Schlenk en pequeños detalles. Las líneas de alto vacío tienen un mejor vacío que las líneas Schlenk, por el uso de una bomba de difusión en lugar de o además de la bomba mecánica que se utiliza generalmente con una línea de Schlenk. En las líneas Schlenk se emplean goma flexible o tubos de plástico para conectar el material de vidrio a la línea, mientras que en el caso de una línea de alto vacío, estos están conectados a través de articulaciones que proporcionan un mejor sellado y vacío.

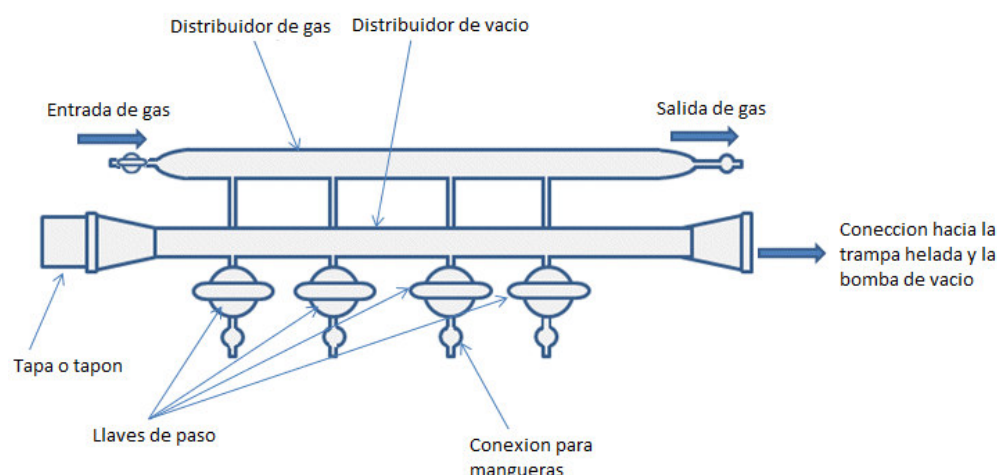


Figura 67. Estructura básica de una línea Schlenk [221]

III.5.1.1 La línea de gas inerte

Esta línea está conectada a un suministro de gas inerte y a la salida de gas por un tubo de plástico o de caucho flexible. El gas inerte, normalmente nitrógeno o argón, se alimenta directamente al colector, o se puede pasar a través de una columna de secado o desoxigenación primero. El gas sale del colector a través de un burbujeador o trampa de mercurio, aceite o silicona, que proporciona un sistema de liberación de presión de la línea y un medio visible de vigilancia de la circulación general de gas. El burbujeador debe tener una salida que apunte hacia la campana, sobre todo si se trata de uno de mercurio. Los burbujeadores de

mercurio dan una presión ligeramente más alta de gas en la línea debido a la mayor presión de vapor de mercurio en comparación con el aceite o la silicona, lo cual puede ser útil cuando se trata de llenar un recipiente en la línea de gas inerte, ya que reduce las posibilidades de contaminación de la línea de aire. Sin embargo, debido a los efectos tóxicos de mercurio, estos burbujeadores ya casi no se usan.

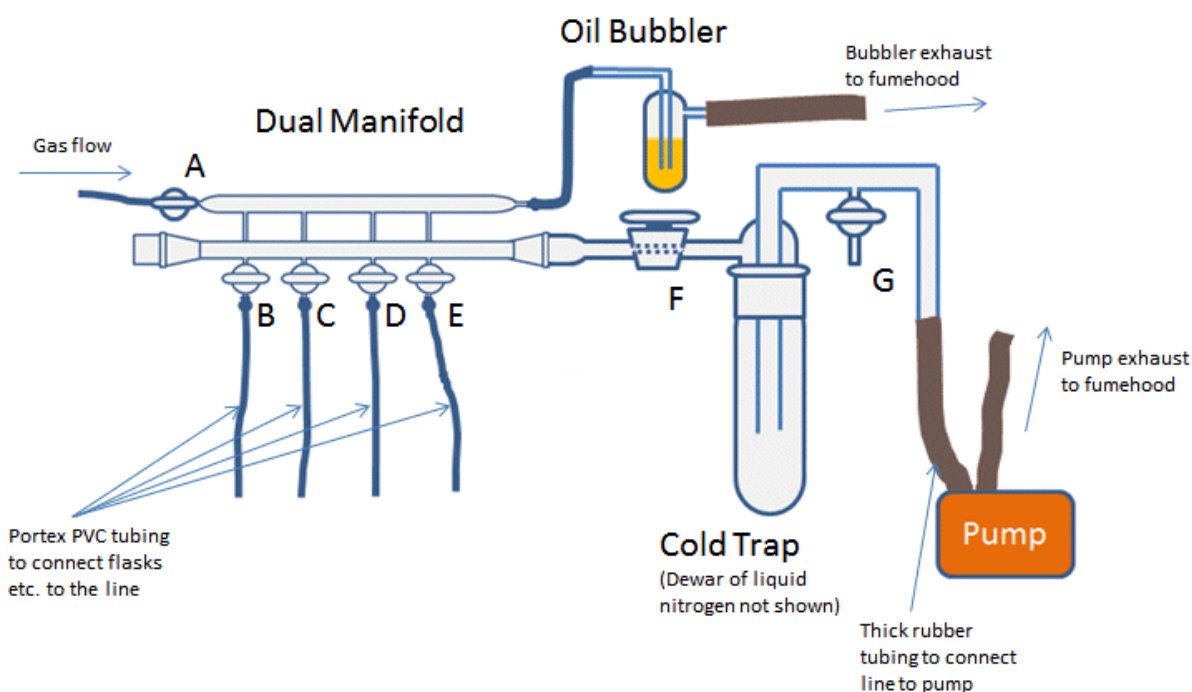


Figura 68. Estructura general de una línea Schlenk completa [222]

III.5.1.2 La línea de vacío y la trampa fría

En una línea Schlenk, el colector de vacío está cerrado en un extremo (por lo general con un tapón) y conectado a una bomba en el otro. El uso de un tapón extraíble en lugar de un extremo permanentemente sellado permite el acceso al interior de la línea y facilita su limpieza. Entre el colector y la bomba debe haber una trampa fría para evitar que los vapores de disolventes volátiles o corrosivos entren en la bomba y degraden el aceite lo cual puede ser perjudicial para las bombas, acortando su vida útil, reduciendo su eficacia, o haciendo que se estropeen. Por lo general se considera que debe haber por lo menos una trampa fría para el funcionamiento adecuado de la bomba y todo el sistema Schlenk.

Dependiendo del diseño de la línea, la trampa fría puede ser aislada de la línea de vacío por una llave y abrirse a la atmósfera externa por una llave entre la trampa y la bomba. Esta llave también permite represurizar la línea con la presión atmosférica una vez que se haya terminado con la línea.

Las trampas, por lo general, se sumergen en un matraz Dewar que normalmente contiene nitrógeno líquido. El nitrógeno líquido enfría la trampa y fuerza a los vapores y gases de la línea Schlenk a condensarse. Una alternativa a nitrógeno líquido es el uso de una mezcla de acetona / hielo seco. Si se tiene la intención de utilizar la línea de Schlenk para evaporar el solvente, es conveniente que se empleen dos trampas. Algunas líneas tienen espacio para una segunda trampa en serie con la primera, sin embargo, si la línea que se está utilizando no es así, una segunda trampa puede ser incluida en el tubo flexible entre el recipiente de reacción (por lo general un balón Schlenk) y la línea Schlenk. Después de su uso, las trampas se pueden quitar para descongelar el solvente, desecharlo y limpiar la misma.

III.5.1.3 Cambio de gas a vacío

En algunas líneas hay dos llaves de paso por puerto o "estación de trabajo", lo que permite el control individual de la alimentación de gas y de vacío para cada línea. Estos grifos consisten en una tapa tipo Young o tapa de teflón que forma un sello.

Otras líneas Schlenk tienen llaves de paso esmeriladas de doble vía (llaves de doble paso) que controlan el acceso al gas y vacío. Esto evita que se tengan abiertas la línea de vacío y de gas al mismo tiempo, y previene la alimentación de la bomba de vacío con el gas inerte. Este tipo de llaves deben ser engrasadas para asegurar un cierre hermético al aire y para que sean más fáciles de convertir.

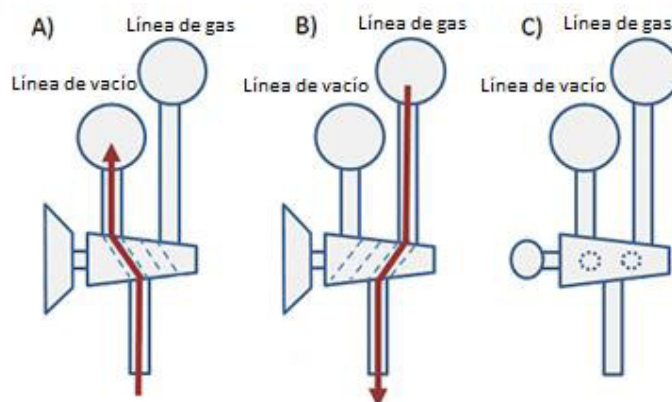


Figura 69. Vista de perfil de la llave de paso de doble vía y sus posiciones para a) vacío; b) gas inerte; c) cerrada para vacío y gas inerte [222]

III.5.1.4 Conexión del material de vidrio a la línea Schlenk

El equipo de vidrio usado en técnicas Schlenk es similar al vidrio normal, pero tiene uno o más brazos laterales adicionales con llaves de paso para conectarse a la línea Schlenk y tienen paredes más anchas para soportar el vacío y la presión que se pueda generar. Los balones de fondo redondo de dos o tres bocas se pueden unir a través de un adaptador. Algunos de los tipos más comunes de equipo de vidrio utilizados se muestran en la siguiente figura.

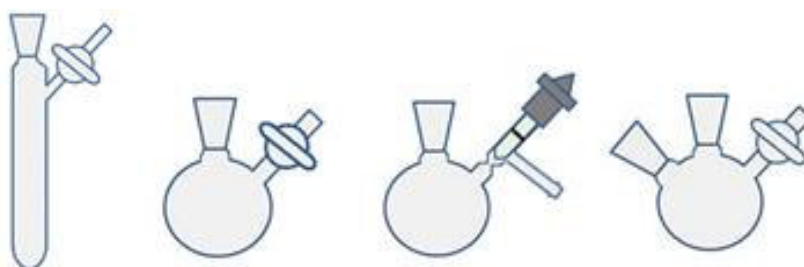


Figura 70. Tipos comunes de material de vidrio usado en la química sensible al aire. A la izquierda se muestra un tubo Schlenk, mientras que los demás son balones Schlenk de dos y tres bocas [222]

El material de vidrio se une a la línea a través de goma flexible o tubo de plástico, comúnmente Tygon o tubos de PVC Portex, que debe tener paredes al menos 3 mm de espesor para evitar que se colapsen bajo vacío. Los tubos deben ser lo

suficientemente largos para llegar a la mesa o el piso de la campana y deben tener 3-4 cm de sobra, que pueden ser útiles si la línea se emplea mucho: Después de un tiempo, la constante fijación y extracción del equipo de vidrio en el tubo hace que se afloje el final de la mismo y que ya no se consiga un buen sellado alrededor del brazo lateral.

III.5.1.5 Engrasado de las juntas, llaves y tapas

Una diferencia entre el uso de técnicas en ausencia de aire y la química estable al aire es que todas las juntas esmeriladas deben ser engrasadas para asegurar un cierre hermético al aire y prevenir la contaminación por O_2 , por ejemplo. En los laboratorios de química orgánica, a menudo se recomienda evitar recubrir con grasa las articulaciones, ya que esta puede entrar en la mezcla de reacción, contaminarla y alterar los espectros. Por razones similares, en los sistemas Schlenk las juntas no deben ser sobreengrasadas.

III.5.2 Técnicas Schlenk

Entre las principales técnicas asociadas con el uso de una línea de Schlenk podemos enumerar [221]:

- Adiciones contracorriente, donde reactivos estables en el aire se agregan al recipiente de la reacción en contra de un flujo de gas inerte.
- El uso de jeringas y tapones de goma para la transferencia de líquidos y disoluciones
- Transferencias mediante cánula, en las que líquidos o disoluciones de reactivos sensibles al aire se transfieren entre diferentes recipientes cerrados con tapones con tabiques utilizando un tubo largo y delgado llamado cánula. El flujo de líquido se obtiene a través del vacío o la presión de gas inerte.

Las curvas redondeadas de tubos con juntas esmeriladas se pueden utilizar para ajustar la orientación de los distintos recipientes.

La filtración bajo condiciones inertes plantea un desafío especial que suele abordarse mediante elementos de vidrio especializados. Un filtro Schlenk consta

de un embudo de vidrio sinterizado (frita) provisto de articulaciones y llaves de paso. Mediante el ajuste del embudo previamente seco y el matraz receptor al matraz de reacción frente a una corriente de nitrógeno, invirtiendo con cuidado el montaje, y conectando el vacío apropiadamente, la filtración se puede lograr con una mínima exposición al aire.

III.5.3 Equipo Schlenk

El equipo Schlenk utilizado comprendió:

- 1.- Un colector o distribuidor dual (línea Schlenk) con tres llaves de paso esmeriladas de doble vía y conexiones esmeriladas hembra de 19/38 (colector de nitrógeno) y 14/20 (colector de vacío).
- 2.- Un burbujeador con silicona para la salida de gases con conector esmerilado macho de 14/20.
- 3.- Una trampa fría para gases con conexión de 29/42 y una junta esmerilada redonda para compensación de presión (hacia la línea Schlenk).
- 4.- Balones de 250mL de dos bocas con cuello esmerilado de 24/40 y Balones de 250mL de tres bocas, con medidas de 24/40 (boca principal) y 14/20 (para adición de reactivos).
- 5.- Codos y adaptadores con conectores macho de 14/20 y 19/38 para la transferencia de soluciones en atmosfera controlada.
- 6.- Embudos Schlenk de 50mL con tubo de compensación de presión, llave de paso y conexiones esmeriladas macho y hembra de 14/20.
- 7.- Un balón de 1L con boca redonda esmerilada para la liberación de presión en el colector de gases.
- 8.- Tubos Schlenk con tapa 14/20.
- 9.- Balones de nitrógeno.

XV. LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Rangos de las 3 regiones del espectro infrarrojo, en longitud de onda y número de onda	32
Tabla 2. Parámetros de la deconvolución del espectro UV-vis de las NPs Cu.....	75
Tabla 3. Parámetros de la deconvolución del espectro UV-vis de las NPs Ag.....	76
Tabla 4. Parámetros de la deconvolución del espectro UV-vis de las NPs Cu@Ag	77
Tabla 5. Condiciones óptimas determinadas para NPs Cu@Ag con una relación Cu:Ag de 2:1	87
Tabla 6. Promedio de los diámetros de la zona de inhibición (DIZ) de las NPs Cu@Ag.....	88
Tabla 7. Resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) de las NPs Cu@Ag.....	89
Tabla 8. Listado de algunas energías de emisión de FRX para Cu y Ag	95
Tabla 9. Ejemplos de compuestos que se oxidan, descomponen o explotan en presencia de oxígeno y humedad	124

XVI. LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema general de un espectrofotómetro UV	12
Figura 2. Espectros UV-vis de NPs Au@Ag (a) y longitud de onda de máxima absorbancia del plasmón en función del volumen de AgNO ₃ utilizado (b)	14
Figura 3. Espectro UV-Vis típico de NPs Cu@Ag	15
Figura 4. Representación gráfica de la ley de Bragg.....	16
Figura 5. Difractograma de NPs Cu@Ag preparadas con microondas	17
Figura 6. Esquema general de un equipo de FRX	18
Figura 7. Principales transiciones atómicas observadas en la fluorescencia de rayos X	19
Figura 8. Espectro típico de FRX-ED	21
Figura 9. Espectro de FRX-ED de NPs Cu@Ag.....	22
Figura 10. Esquema general de un microscopio electrónico de barrido	23
Figura 11. Imagen MEB de NPs Cu@Ag	25
Figura 12. Esquema general de un microscopio electrónico de transmisión.....	26
Figura 13. Imagen MET de NPs Cu@Ag	27
Figura 14. Esquema del movimiento browniano y las fluctuaciones de intensidad de luz que causa. SLS: Static light scattering (Dispersión estática de luz)	28
Figura 15. Fluctuaciones de intensidad típicas para partículas grandes y pequeñas	29

Figura 16. Espectro IR de una muestra de octano	33
Figura 17. Espectro IR de la β -ciclodextrina (a) y de las NPs Cu@Ag (b)	34
Figura 18. Fases de la reducción de una solución de Cu^{2+} (a), primero a Cu^{1+} (b) y luego a Cu metálico nanoparticulado (c)	36
Figura 19. Espectro UV-vis típico de NPs Cu. Se observa la banda de RPS a aproximadamente 580 nm.....	36
Figura 20. Difractograma de NPs Cu con sistema FCC. Se muestran los índices de Miller de las tres difracciones más intensas	37
Figura 21. Difractograma simulado del estándar JCPDS, copper file No. 04–0836, de una muestra de polvo de cobre	37
Figura 22. Imágenes MEB (izquierda) y MET (derecha) de una muestra de NPs Cu esféricas.....	38
Figura 23. Solución precursora de nitrato de plata (izquierda) y solución coloidal NPs Ag (derecha).....	39
Figura 24. Espectro UV-Vis de absorción de NPs esféricas de plata obtenidas con distintos agentes reductores.....	40
Figura 25. Comparación del patrón de difracción de una muestra de NPs Ag con sistema FCC (a) con (b) el estándar JCPDS file No. 04-0783.....	41
Figura 26. Imágenes MEB y MET de muestras de NPs Ag.....	42
Figura 27. Proceso de la deposición no electrolítica: (a) Autocatalítico: el metal noble (b) Catalizado por el sustrato (c) Desplazamiento galvánico	45
Figura 28. Difractograma típico de NPs Cu recubiertas con plata.....	49
Figura 29. Espectro UV-vis de absorción de una muestra de NPs Cu@Ag en una proporción atómica de 1/8 (Ag/Cu).....	50
Figura 30. Espectros UV-Vis de muestras de NPs Cu-Ag tipo aleación preparadas con distintas composiciones.....	50
Figura 31. Imagen MEB de una muestra de NPs Cu@Ag preparada a una relación molar de $[\text{Cu}]/[\text{Ag}] = 1/2$	51
Figura 32. Imagen MET de una muestra de NPs Cu@Ag preparada a una relación molar de $[\text{Cu}]/[\text{Ag}] = 1/2$	51
Figura 33. Equipo de ultrasonido (US)	60
Figura 34. Diseño de la línea Schlenk.....	61
Figura 35. Sistema diseñado para la síntesis de NPs	62
Figura 36. Solución de $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ en EG a 70°C	63
Figura 37. Transición del Cu^{2+} a Cu^+	64
Figura 38. Nanopartículas de cobre	65
Figura 39. Disolución del AgOAc.....	66
Figura 40. Ligera coloración amarilla en la mezcla Ag-PVP.....	66
Figura 41. Formación de NPs Ag en presencia del ácido ascórbico	67
Figura 42. Nanopartículas de plata obtenidas en presencia de ácido ascórbico y ácido cítrico	67

Figura 43. NPs Cu@Ag obtenidas	68
Figura 44. Espectro UV-Vis de las NPs Cu sintetizadas	72
Figura 45. Espectro UV-Vis de las NPs Ag sintetizadas	72
Figura 46. Espectro UV-Vis de las NPs Cu@Ag sintetizadas mediante recubrimiento electrolítico. El espectro corresponde a las NPs Cu@Ag-3.....	73
Figura 47. Deconvolución del espectro UV-vis de NPs Cu	73
Figura 48. Deconvolución del espectro UV-vis de NPs Ag.....	74
Figura 49. Deconvolución del espectro UV-vis de NPs Cu@Ag	74
Figura 50. Espectro IR de una mezcla de EG y PVP	78
Figura 51. Espectro IR de una mezcla de EG y AA.....	78
Figura 52. Espectro IR de una mezcla de EG y AC	79
Figura 53. Espectro IR de la matriz empleada en la síntesis.....	79
Figura 54. Espectro IR de la suspensión coloidal de Cu@Ag NPs en EG	80
Figura 55. Difractograma de la muestra de NPs Cu.....	80
Figura 56. Difractograma de la muestra de NPs Ag	81
Figura 57. Difractograma de la muestra de NPs Cu@Ag.....	81
Figura 58. Espectro de fluorescencia de las NPs Cu@Ag	82
Figura 59. Imagen MEB de las NPs Cu (a) y el acercamiento a uno de los cúmulos de NPs agregadas (b)	83
Figura 60. EDX de las NPs Cu	84
Figura 61. Imagen MET de las NPs Cu (a) y el acercamiento a las NPs visibles en los bordes (b)	85
Figura 62. Análisis DLS de la muestra de Cu@Ag-3.....	86
Figura 63. Análisis DLS de la muestra de Cu@Ag-4.....	87
Figura 64. Halos de inhibición generados por las NPs Cu@Ag. (a) y (c) corresponden a <i>S. aureus</i> ATCC 25923 mientras que (b) y (d) a <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853. Las imágenes superiores fueron tomadas a las 24h de ser incubadas a 37°C, mientras las imágenes inferiores a las 72h, donde se aprecia replamamiento de la zona de inhibición por el Blanco	88
Figura 65. Resultados de la CMI y la CMB para las NPs Cu@Ag-4	89
Figura 66. Cinética de muerte de las cepas <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 en presencia de las NPs Cu@Ag-3 y Cu@Ag-4.	90
Figura 67. Estructura básica de una línea Schlenk	126
Figura 68. Estructura general de una línea Schlenk completa	127
Figura 69. Vista de perfil de la llave de paso de doble vía y sus posiciones para a) vacío; b) gas inerte; c) cerrada para vacío y gas inerte.....	129
Figura 70. Tipos comunes de material de vidrio usado en la química sensible al aire. A la izquierda se muestra un tubo Schlenk, mientras que los demás son balones Schlenk de dos y tres bocas	129